

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1928-1929

N° 12.

SUR LE DOSAGE DES SUCRES RÉDUCTEURS PAR LES LIQUEURS CUPRO-ALCALINES EN PRÉSENCE D'ACIDE CYANHYDRIQUE

THÈSE

Pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le 30 Mai 1929

PAR

CHALMETA TOMAS Alberto

Pharmacien de l'Université de Madrid
Licencié en Sciences et en Médecine de l'Université de Valence.

JURY { MM. BOUGAULT, Président.
HERISSEY, Chargé de Cours.
FLEURY, Agrégé.

PARIS

SOCIÉTÉ GÉNÉRALE D'IMPRIMERIE ET D'ÉDITION

17, RUE CASSETTE, 17

1929

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1928-1929

N° 12.

SUR LE DOSAGE DES SUCRES RÉDUCTEURS PAR LES LIQUEURS CUPRO-ALCALINES EN PRÉSENCE D'ACIDE CYANHYDRIQUE

THÈSE

Pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le 30 Mai 1929

PAR

CHALMETA TOMAS Alberto

Pharmacien de l'Université de Madrid
Licencié en Sciences et en Médecine de l'Université de Valence.

JURY

MM. BOUGAULT, Président.
HERISSEY, Chargé de Cours.
FLEURY, Agrégé.

PARIS

SOCIÉTÉ GÉNÉRALE D'IMPRIMERIE ET D'ÉDITION

17, RUE CASSETTE, 17

—
1929

Personnel de la Faculté de Pharmacie

ADMINISTRATION

MM. RADAIS, Doyen, O. *, ☉ I.
 PERROT, Assesseur, O. *, ☉ I.
 G. DURSANT, Secrétaire, *, ☉ I.

PROFESSEURS

MM. RADAIS, O. *, ☉ I.	Cryptogamie et Microbiologie.
BÉHAL, Membre de l'Institut, C. *, ☉ I.	Chimie organique.
PERROT, O. *, ☉ I.	Histoire naturelle des Médicaments.
COUTIÈRE, *, ☉ I.	Zoologie.
GRIMBERT, *, ☉ I.	Chimie biologique.
LEBEAU, O. *, ☉ I.	Pharmacie chimique.
DELÉPINE, O. *, ☉ I.	Hydrologie et Hygiène.
GUERBET, *, ☉ I.	Toxicologie.
BOUGAULT, *, ☉ I.	Chimie analytique.
GORIS, *, ☉ I.	Pharmacie galénique.
GUÉRIN, *, ☉ I.	Botanique générale.
TASSILLY, *, ☉ I.	Physique.
N***	Chimie minérale.

Doyens honoraires: MM. MOUREU, G. O. *, ☉ I. et A. VILLIERS, *, ☉ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. DAMIENS, *, ☉ I. Minéralogie.
 Marc HONNORAT, *, ☉ I. Législation et Déontologie pharmaceutiques.
 LUTZ, *, ☉ I. Cryptogamie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. SOMMELET, *, ☉ I.	MM. PICON, ☉ I.
DAMIENS, *, ☉ A.	FABRE, ☉ A.
LUTZ, *, ☉ I.	MASCRE, ☉ I.
LAUNOY, O. *, ☉ A.	FLEURY, ☉ I.
HÉRISSEY, *, ☉ I.	BACH, ☉ I.
DELABY, *, ☉ A.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, *, ☉ I. Chimie générale.
 SOMMELET, *, ☉ I., FABRE, ☉ A. : *agrégés*,
 chargés des travaux de Chimie analytique.
 SOUÈGES, ☉ I. Micrographie.
 LEROUX, ☉ I. Physique.
 DENAL, ☉ I. Microbiologie.
 HÉRISSEY, *, ☉ I., DELABY, *, ☉ A. et PICON, ☉ I. :
agrégés, chargés des travaux généraux de 4^e année.
Bibliothécaire en chef: M. BEAULIEUX, ☉ I.

R. UNIV.
 BIBLIOTHEEK
 LEIDEN

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BOUGAULT,
Pharmacien de l'Hôpital de la Charité,
Chevalier de la Légion d'Honneur

Hommage de respectueuse reconnaissance.

A MON MAITRE,

LE PROFESSEUR AGRÉGÉ HENRI HERISSEY,

*Pharmacien de l'Hôpital Saint-Antoine,
Chevalier de la Légion d'Honneur*

*En témoignage
de mon profond attachement.*

A LA EXMA. DIPUTACION PROVINCIAL DE VALENCIA

En témoignage de gratitude.

SUR LE DOSAGE DES SUCRES RÉDUCTEURS PAR LES LIQUEURS CUPRO-ALCALINES EN PRÉSENCE D'ACIDE CYANHYDRIQUE

INTRODUCTION

L'abondance des *glucides* dans la nature, leur importance biologique et la possibilité qu'ils ont de se prêter à de nombreuses transformations font que leur détermination quantitative est une des opérations les plus fréquemment pratiquées, tant dans les laboratoires de recherche pure que dans ceux qui s'occupent soit de l'analyse des produits physiologiques et pathologiques, soit des essais de matières alimentaires, soit encore de l'analyse de produits ressortissant à des industries extrêmement importantes comme la brasserie, la sucrerie, l'amidonnerie, etc.

Cette détermination, — et nous envisageons ici plus particulièrement les *glucides* réducteurs, — peut être réalisée par des essais d'ordres divers, puisqu'ils mettent en œuvre, suivant les cas, des méthodes chimiques, physiques ou même biologiques.

Les méthodes chimiques sont, d'une façon générale, les plus communément employées pour le dosage de sucres réducteurs ; elles sont précisément basées sur la propriété que possèdent ces derniers d'être facilement oxydables, grâce à la présence dans leur molécule d'un groupement fonctionnel aldéhydique ou d'un radical cétonique encadré par des groupements oxhydryliques.

Les solutions oxydantes utilisables peuvent être très variées ; mais, dans la pratique, on peut dire que, aussi bien pour les déterminations qualitatives que quantitatives, on n'a guère employé que les liqueurs mercurielles, l'iode en présence des carbonates alcalins, les solutions de ferri-cyanures alcalins et surtout les liqueurs cupro-alcalines.

Pour ce qui est de ces dernières, TROMMER (1) distinguait le sucre de canne du glucose en ajoutant au liquide à examiner quelques gouttes de solution de sulfate de cuivre, puis de la lessive de potasse et en portant le mélange à une température voisine de l'ébullition ; dans ces conditions, le glucose réduit le sel cuivrique et provoque la formation d'un précipité rouge d'oxydure cuivreux ; par contre, le sucre de canne ne produit aucun changement parce que l'oxyde cuivrique qui pourrait être précipité est en réalité maintenu en solution, la quantité de sulfate de cuivre mise en réaction étant très petite par rapport à celle de potasse, et le saccharose jouant d'ailleurs un rôle favorisant pour cette dissolution.

BARRESWIL (2) introduisit en 1884, le tartrate neutre de potassium dans les liqueurs cupro-alcalines et élaborâ ainsi le premier procédé de détermination quantitative du glucose à l'aide de ces dernières.

BARRESWIL titrait la liqueur cupro-alcaline au moyen d'une solution de glucose de titre connu ; mais, comme l'oxydation du glucose, dans ces conditions, ne procède pas d'une réaction simple mais bien d'un grand nombre de réactions complexes, dont la rapidité et l'importance relatives peuvent varier suivant les conditions de dosage, il s'ensuivait facilement des erreurs de 2 à 3 pour 100 dans les essais de BARRESWIL, essais dans lesquels ces conditions n'étaient pas fixées avec précision.

Ce n'est pas ici le lieu de rapporter les travaux des nombreux auteurs qui se sont efforcés, dans la suite, de régulariser la méthode de Barreswil, en établissant, d'une part, des formules bien définies en vue de la préparation des liqueurs cupro-alcalines et en fixant, d'autre part, les conditions exactes de dilution des liqueurs, de température, de temps de chauffe, etc., dans lesquelles l'opérateur doit se placer pour obtenir un dosage précis. Nous ne retiendrons finalement à ce point de vue que la méthode relative-

(1) TROMMER. — Unterscheidung von Gummi, Dextrin, Traubenzucker und Rohrzucker: *Pharmaceutisches Central-Blatt*, II, 762-764, 1841.

(2) E. PÉLIGOT. — Rapport fait à la société d'encouragement sur le concours relatif à la découverte d'un moyen saccharimétrique propre à faire connaître promptement la quantité de sucre contenue dans la betterave ou dans tout autre produit sucré; *Journ. Pharm. et Chim.*, [3], VI, 301-304, 1844.

ment récente de G. BERTRAND (1), qui, par sa précision et sa facilité d'emploi, donne aux chercheurs toute satisfaction pour le but à atteindre.

Malheureusement, la réduction des liqueurs cupro-alkalines n'est pas une réaction spécifique des glucides réducteurs ; beaucoup d'autres composés organiques peuvent la déterminer également ; tels sont les aldéhydes de la série grasse, certaines cétones, les hydrazines, des polyphénols, des tanins, l'acide caféique, des dérivés trihalogénés comme le chloroforme, etc. Beaucoup de ces substances ne se rencontrent pas dans les produits naturels et certaines autres peuvent être facilement éliminées de ces derniers par une défécation convenable pratiquée avant le dosage des sucres réducteurs qu'elles accompagnent ; il en résulte que se trouve ainsi éloignée, au cours de ce dosage, toute cause d'erreur inhérente à leur présence originelle dans les produits examinés.

Un certain nombre de substances, quoique non réductrices par elles-mêmes, peuvent, cependant, lorsqu'elles sont mélangées aux sucres à doser, être l'occasion d'erreurs notables dans la détermination quantitative de ces derniers.

Ainsi PÉLIGOT (2) a montré que, si on ajoute du glucose à un lait de chaux, l'alkalinité du liquide diminue lentement à froid et rapidement à chaud en formant du « glucate de chaux » dont une partie reste dissoute tandis qu'une autre partie est précipitée à l'état de « glucate tribasique ».

D'après L. EYXON et J.-H. LANE (3), la présence des bases alcalino-terreuses, même à de très faibles concentrations, cause une erreur par défaut dans le dosage des sucres réducteurs, par la liqueur de Fehling. Ce fait est intéressant à signaler pour le dosage des matières sucrées dans les mélasses et les sucres bruts. L'auteur préconise l'élimination des bases alcalino-terreuses par addition d'une solution d'oxalate de potassium.

(1) G. BERTRAND. — Le dosage des sucres réducteurs ; *Bull. Soc. Chim.*, [3], XXXV, 1285-1299, 1906.

(2) E. PÉLIGOT. — Sur quelques propriétés des glucoses ; *C. R. Ac. des Sciences*, LXXXIX, 918-922, 1879.

(3) L. EYXON et J.-H. LANE. — Influence des bases alcalino-terreuses sur la détermination des sucres réducteurs par la liqueur de Fehling ; d'après *Bull. Soc. Chim.*, [4], XXXIV, 1643, 1923.

E.-A. COOPER et H. WALKER (1) ont signalé l'action retardatrice, sur l'oxydation du glucose, des chlorures de sodium ou de potassium, lorsque ces derniers se trouvent à une concentration plus grande que celle des liqueurs normales ; il en va de même pour les bromures, les iodures et le citrate de sodium à plus de 2 pour 100. Mais ces auteurs opèrent dans des liqueurs alcalinisées par le carbonate et le bicarbonate de sodium suivant la technique de MAC LEAN.

FLEURY et TAVERNIER (2), d'autre part, ont montré que les chlorures, en milieu acide, peuvent empêcher la précipitation de l'oxydure de cuivre tandis qu'ils ne possèdent pas la moindre action, à ce point de vue, en milieu alcalin ; de même, la mannite qui produit une grosse erreur par défaut en milieu acide détermine une erreur beaucoup moindre en milieu alcalin.

LÉVY et DOISY (3) ont démontré que les borates, sans aucune action sur l'oxydation des sucres réducteurs par les solutions acides de cuivre (type Barfoed), diminuent au contraire la quantité de Cu_2O formée par les liqueurs alcalines soit ou non carbonatées.

Pour notre part, dans un travail fait en collaboration avec M. H. HÉRISSEY (4) nous avons montré que la présence d'acide cyanhydrique détermine une erreur par défaut dans le dosage des sucres réducteurs par les liqueurs cupro-alcalines, en particulier au cours des déterminations effectuées suivant la technique de Bertrand.

M. HÉRISSEY m'a engagé à poursuivre l'étude des facteurs qui concourent à produire cette erreur et en particulier à expérimenter à ce point de vue sur un certain nombre de sucres réducteurs ; cette étude devait tout naturellement nous conduire à la

(1) E. A. COOPER et H. WALKER. — Further observations on the nature of the reducing substance in human blood ; *Biochem. Journ.*, XVI, 455-459, 1922.

(2) P. FLEURY et P. TAVERNIER. — Quelques observations sur le pouvoir réducteur du glucose vis-à-vis des sels de cuivre en milieu alcalin (liqueur de Fehling) et en milieu acide (réactif de Barfoed) ; *Bull. Soc. chim. biol.*, VII, 311-335, 1925.

(3) M. LEVY et E.-A. DOISY. — The effect of borate on the oxidation of glucose and other sugars ; *Journ. biol. chem.*, LXXVII, 733-751, 1928.

(4) M. HÉRISSEY et A. CHALMETA. — Sur le dosage des sucres réducteurs et, en particulier, du glucose, par les liqueurs cupro-alcalines en présence d'acide cyanhydrique ; *Journ. de Pharm. et de Chim.*, [8], VIII, 393-406, 1928.

recherche des moyens d'éviter l'erreur. J'ai apporté à cette tâche tous mes efforts et ma bonne volonté, en me gardant bien toutefois d'affirmer que je l'ai remplie d'une façon définitive.

Parmi les innombrables modalités du titrage des sucres réducteurs par les liqueurs cupro-alcalines nous avons choisi, pour limiter notre expérimentation, les techniques de BERTRAND, de FEHLING (1) (décoloration de la liqueur bleue à l'ébullition) et de CAUSSE-BONNANS (2). Nous avons d'ailleurs donné, d'une façon presque exclusive, la préférence à la méthode de BERTRAND qui nous a permis, mieux que les autres, de dissocier et d'analyser les diverses réactions déterminantes de la cause d'erreur par défaut apportée par l'acide cyanhydrique dans le dosage des sucres réducteurs.

Nous avons divisé notre travail en trois parties principales. Dans la première partie, nous démontrons que la présence d'acide cyanhydrique produit une erreur par défaut, quel que soit le sucre envisagé dans le dosage et quelle que soit la quantité d'acide cyanhydrique présente ; nous étudions, d'autre part, les variations de l'erreur considérée, en fonction des quantités respectives des autres facteurs présents, sucre et acide cyanhydrique.

Dans la seconde partie, nous étudions différentes réactions chimiques susceptibles d'intervenir dans la production de l'erreur, sans avoir évidemment la prétention de les avoir toutes envisagées ; nous pensons, en effet, que le phénomène étudié résulte de causes très complexes et que nous n'avons pu mettre en relief que quelques-unes de ces dernières.

Dans une troisième partie, nous étudions les différentes techniques, — toutes basées sur l'élimination de l'acide cyanhydrique, — qui peuvent être utilisées pour éviter la cause d'erreur signalée et étudiée dans les parties précédentes.

Avant d'aborder l'exposé de mes recherches, je veux tout d'abord présenter l'expression de mes remerciements reconnaissants et respectueux à M. le Professeur BOUGAULT, pour l'accueil si

(1) H. FEHLING. — Ueber die quantitative Bestimmung des Zuckers und Stärkemels mittels Kupfervitriol; *Chemisch-Pharmaceutisches Central-Blatt*, I, 244-246, 1850.

(2) M. H. CAUSSE. — Sur le dosage du sucre par la liqueur de Fehling; *Bull. Soc. chim.*, L, 625-626, 1888.

bienveillant qu'il m'a réservé dans son Laboratoire et pour l'intérêt qu'il m'a prodigué en toutes circonstances. J'adresse à mon maître, le professeur agrégé H. HÉRISSEY, l'assurance de ma bien sincère et respectueuse reconnaissance pour les précieux conseils qu'il m'a prodigués à chaque instant. Je le remercie vivement d'avoir bien voulu mettre à ma disposition un certain nombre de sucres rares préparés par ses soins, ce qui m'a permis d'étendre le champ de mes observations, et je lui sais beaucoup de gratitude de l'aide qu'il m'a apportée dans la rédaction, pénible pour moi, de ce travail en langue française.

Je remercie M. le Professeur Agrégé FLEURY de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de faire partie de mon jury de thèse.

Je ne saurais oublier M. CATTELAÏN, préparateur du cours de Chimie analytique dont les précieux conseils ont grandement facilité ma tâche.

PREMIÈRE PARTIE

LA PRESENCE D'ACIDE CYANHYDRIQUE EST UNE CAUSE D'ERREUR PAR DEFAUT DANS LE DOSAGE DES SUCRES REDUCTEURS PAR LES LIQUEURS CUPRO-ALCALINES.

Le dosage des sucres réducteurs et, en particulier, du glucose *d*, dans des liqueurs qui contiennent également de l'acide cyanhydrique est un problème qui se pose assez fréquemment en chimie végétale et, d'une façon générale, en chimie biologique lorsqu'il s'agit, par exemple, d'étudier le dédoublement des hétérosides (glucosides) cyanhydriques, soit par les ferments, soit par les acides.

Or, lorsqu'on utilise des méthodes de dosage dans lesquelles on recueille l'oxydule de cuivre produit par le sucre, à l'ébullition, au sein de liqueurs cupro-alkalines, dans le but de titrer ensuite cet oxydule soit volumétriquement, soit par pesée après réduction à l'état de cuivre, on constate que la présence d'acide cyanhydrique dans les liqueurs essayées détermine une diminution du poids de l'oxydule recueilli, qui peut être telle qu'elle aboutisse même à la disparition totale de celui-ci ; le dosage conduit ainsi à des résultats entachés d'erreur par défaut et peut même faire conclure à une absence totale de sucre, alors qu'il en existe des quantités notables dans la solution analysée. Voici, par exemple, les résultats d'essais tout à fait concluants à ce point de vue :

I. — Essais préliminaires avec le glucose *d*. — D'une part, on a opéré sur 5 cm³ d'une solution de glucose *d* préparée par dissolution de 1 gr., 0164 de ce sucre dans une quantité suffisante d'eau pour faire 100 cm³ : le dosage a été fait suivant la méthode de Bertrand (1), la prise d'essai ayant été préalablement amenée à

(1) Gabriel BERTRAND. Le dosage des sucres réducteurs; *Bull. Soc. chim.*, [3], XXXV, 1285, 1906. — Sauf indications contraires, tous nos dosages de sucre ont été effectués suivant cette méthode.

un volume de 20 cm³. Pour réoxyder le sulfate ferrique réduit par l'oxydule de cuivre recueilli, on a employé 9 cm³, 7 de solution de permanganate de potassium (1 cm³=0,00996 Cu) ce qui conduit à une teneur en glucose de 1 gr., 0140 pour 100 cm³ de liqueur originelle. Plusieurs essais semblables, répétés avec des solutions de permanganate de potassium identique ou de titre très légèrement voisin, nous ont donné des chiffres variant de 1 gr., 0140 à 1 gr., 0200.

D'autre part, les dosages précédents ont été répétés, après avoir préalablement ajouté à la prise d'essai de 5 cm³ de solution sucrée, 2 cm³ d'une solution aqueuse d'acide cyanhydrique à 1 gr., 2200 pour 100 cm³ (1) ; on n'a plus employé alors que 5 cm³, 4 de solution de permanganate de potassium, ce qui correspond à 0 gr., 5540 de glucose pour 100 cm³ de solution originelle, soit une erreur de 1,0140—0,5540=0 gr., 4600 pour 100 cm³ ; en d'autres termes on n'a retrouvé que 0 gr., 546 pour 1 gr. de glucose existant dans la solution analysée.

Au cours du dosage qui a conduit à ces derniers résultats, le mélange destiné à produire l'oxydule de cuivre avait été effectué dans l'ordre suivant :

Solution sucrée à $\frac{1 \text{ gr., } 0164}{100 \text{ cm}^3}$	5 cm ³
Solution d'acide cyanhydrique à $\frac{1 \text{ gr., } 2200}{100 \text{ cm}^3}$..	2 —
Eau distillée	13 —
Liqueur cuivrique (A)	20 —
Liqueur sodique (B)	20 —

Dans un autre essai, on a interverti l'ordre de mélange des deux dernières liqueurs, cuivrique et sodique. Le résultat a été très voisin du précédent ; on a trouvé 0 gr., 5650 pour 100 cm³, soit 0 gr., 557 pour 1 gr. de glucose mis en œuvre.

II. — Influence de quantités variables d'acide cyanhydrique et extension des recherches à d'autres sucres que le glucose d. —
L'erreur par défaut qu'on observe au cours du dosage du glucose

(1) Cette solution d'acide cyanhydrique avait été préparée par distillation d'un mélange de ferrocyanure de potassium et d'acide sulfurique à 10 p. 100 ; elle avait été titrée par la méthode de Liebig-Denigès.

en présence d'acide cyanhydrique est naturellement variable suivant les quantités de ce dernier qui existent dans les liqueurs.

A. On a utilisé une solution aqueuse de glucose *d* contenant 0 gr.,622 de sucre pour 100 cm³ ; on a pratiqué chaque dosage sur 10 cm³ de cette solution, à laquelle on ajoutait des quantités croissantes d'une solution aqueuse d'acide cyanhydrique à 1 gr.,30 pour 100 cm³ ; chaque prise d'essai de la solution sucrée était complétée par de l'eau à un volume de 20 cm³. Nous indiquons ci-dessous les volumes de solution aqueuse de permanganate de potassium (1 cm³=0 gr.,0103 Cu) qui correspondent à chaque dosage :

	Volume de solution de permanganate de potassium utilisé.
Solution sucrée non additionnée d'acide cyanhydrique.	11 cm ³ 3
Solution sucrée additionnée de 1 cm ³ de solution cyanhydrique	9 cm ³ 3
Solution sucrée additionnée de 2 cm ³ de solution d'acide cyanhydrique	7 cm ³ 2
Solution sucrée additionnée de 3 cm ³ de solution d'acide cyanhydrique	4 cm ³ 6
Solution sucrée additionnée de 4 cm ³ de solution d'acide cyanhydrique	2 cm ³ 5
Solution sucrée additionnée de 5 cm ³ de solution d'acide cyanhydrique	Il ne s'est pas précipité d'oxydule de cuivre.

B. Des quantités d'ailleurs beaucoup plus faibles d'acide cyanhydrique que celles utilisées dans l'essai précédent conduisent toujours à des résultats entachés d'erreurs par défaut, à la vérité moins considérables, mais qui n'en démontrent pas moins l'impossibilité de pratiquer, dans ces conditions, un dosage fondé sur la détermination finale de l'oxydule de cuivre recueilli. Ainsi, on a opéré une série de dosages comparatifs, d'une part sur 5 cm³ d'une solution aqueuse de glucose *d* à 1 gr.,0164 (1) pour 100 cm³, non additionnée d'acide cyanhydrique, et, d'autre part, sur des volumes semblables de solution sucrée, additionnés respectivement de quantités d'acide cyanhydrique telles qu'on ait

(1) Cette solution contenait donc par litre 0 mol., 05646 de glucose.

en présence du sucre des quantités moléculaires de ce corps égales à 0,1, 0,2, 0,5, 1 (proportion équimoléculaire), 2, 4, 6, 8 (1).

Le tableau suivant donne l'ensemble des résultats obtenus :

Glucose d

Nombre de c/m^3 de solution de glu- 100 c/m^3 cose à 1 gr., 0164	Nombre de c/m^3 de solution de 1 gr., 523 CNH à 100 c/m^3	Proportion rela- tive de glucose et de CNH, en molécules	Nombre de c/m^3 de M_2O_4K 1 $c/m^3 = 0$ gr., 0987 Cu	Glucose trouvé pour la prise d'essai, en grammes	Perte en glucose, en grammes	Proportion de glucose trouvé pour 100 de glucose initial
5	0	»	9/8	0,0508	»	100
5	0,05	10/1	9,7	0,0501	0,0007	98
5	0,1	5/1	9,4	0,0485	0,0023	95,4
5	0,25	2/1	8,9	0,0458	0,0050	90,1
5	0,5	1/1	8,25	0,0422	0,0086	83
5	1	1/2	7,2	0,0365	0,0143	71,8
5	2	1/4	4,6	0,0228	0,0280	44,8
5	3	1/6	1,8	0,0087	0,0421	17,1
5	4	1/8	0	0,0000	0,0508	0

Les expériences que nous allons maintenant rapporter montrent que la cause d'erreur, due à la présence d'acide cyanhydrique, que nous venons de signaler dans le dosage du glucose d, va se retrouver d'une façon générale dans le dosage de tous les autres sucres réducteurs pratiqué suivant une technique analogue, c'est-à-dire basé sur la détermination quantitative de l'oxydule de cuivre précipité au cours de l'essai.

Nos recherches, à ce point de vue, ont porté, soit sur des oses, les uns à fonction aldéhydrique comme le galactose et le mannose, les autres à fonction cétonique comme le lévulose, soit sur des *holosides* comme le maltose, le lactose, le gentiobiose.

(1) A cet effet, nous avons, pour la commodité des expériences, préparé des solutions aqueuses d'acide cyanhydrique contenant, l'une 1 gr., 523 d'acide cyanhydrique pour 100 cm^3 , c'est-à-dire sensiblement 0 mol., 564 par litre et l'autre dix fois plus diluée, c'est-à-dire contenant 0 mol., 0564 pour le même volume.

Les tableaux suivants exposent les résultats de ces essais relatifs à ces divers sucres (1) :

Galactose d

Nombre de c/m^3 de solution de galac- 4 gr., 0164 tose à 100 c/m^3	Nombre de c/m^3 de solution de CNH à 100 c/m^3 4 gr., 523	Proportion rela- tive de galactose et de CNH, en molécules	Nombre de c/m^3 de solution de M_nO_4K 1 = 0 gr., 100/Cu	Galactose trouvé pour la prise d'essai	Perte en galactose en grammes	Proportion de galactose trouvé pour 100 de galactose initial
3	0	»	9,25	0,0508	»	100
3	0,05	10/1	9,15	0,0502	0,0006	98,8
3	0,1	5/1	8,85	0,0486	0,0022	95,7
3	0,25	2/1	8,4	0,0452	0,0056	88,9
3	0,5	1/1	8	0,04355	0,00745	83,7
3	1	1/2	6,5	0,0350	0,0158	68,9
3	2	1/4	4,3	0,0228	0,0280	44,9
3	3	1/6	1,6	0,0082	0,0426	16,1
5	4	1/8	0	0,0000	0,0508	0

Mannose d

Nombre de c/m^3 de solution de man- 4 gr., 0164 nose à 100 c/m^3	Nombre de c/m^3 de solution de CNH à 100 c/m^3 4 gr., 523	Proportion rela- tive de mannose et de CNH, en molécules	Nombre de c/m^3 de M_nO_4K 1 = 0 gr., 0100 Cu	Mannose trouvé pour la prise d'essai	Perte en mannose en grammes	Proportion de mannose trouvé pour 100 de mannose initial
3	0	»	9,75	0,0509	»	100
3	0,05	10/1	9,65	0,0503	0,0006	98,8
3	0,1	5/1	9,3	0,0484	0,0025	95,1
3	0,25	2/1	9	0,0467	0,0042	91,7
3	0,5	1/1	8,4	0,0434	0,0075	85,3
3	1	1/2	7,4	0,0379	0,0130	74,4
3	2	1/4	5,6	0,0254	0,0225	55,8
3	3	1/6	2,7	0,0131	0,0378	23,8
5	4	1/8	0,35	0,0017	0,0492	3,4
5	5	1/10	0	0,0000	0,0509	0

(1) Nous avons appliqué, au cours des dosages de ceux-ci, les coefficients indiqués par G. BERTRAND, en calculant par interpolation, pour la mannose d par exemple, ceux qui ne se trouvaient pas dans les tables publiées par cet auteur.

Lévulose

	Nombre de c/m ³ de solution de lévu- 1 gr., 0164 lose à 100 c/m ³	Nombre de c/m ³ de solution de 1 gr., 523 CNH à 100 c/m ³	Proportion rela- tive de glucose et de CNH, en molécules	Nombre de c/m ³ de sol. de M _n 0 ⁴ K 1 c/m ³ = 0 gr. 0100 Cu	Lévulose trouvé pour la prise d'essai	Perte en lévulose en grammes	Proportion de lévulose trouvé pour 100 de lévulose initial
0	0	0	»	9,7	0,0509	«	100
0,05	0,05	10/1	»	9,6	0,0504	0,0005	99
0,1	0,1	5/1	»	9,3	0,0486	0,0023	98,5
0,25	0,25	2/1	»	8,9	0,0464	0,0045	91,2
0,5	0,5	1/1	»	8,2	0,0424	0,0075	83,3
1	1	1/2	»	7,05	0,0361	0,0138	70,9
2	2	1/4	»	4,4	0,0219	0,0290	43
3	3	1/6	»	2,2	0,0107	0,0402	21
4	4	1/8	»	0	0,0000	0,0509	0

Maltose

	Nombre de c/m ³ de solution de mal- 1 gr., 934 tose à 100 c/m ³	Nombre de c/m ³ de solution de 1 gr., 523 CNH à 100 c/m ³	Proportion rela- tive de maltose et de CNH, en molécules	Nombre de c/m ³ de sol. M _n 0 ⁴ K 1 c/m ³ = 0 gr. 0100 Cu	Maltose trouvé pour la prise d'essai	Perte en maltose en grammes	Proportion de maltose trouvé pour 100 de maltose initial
0	0	0	»	10,5	0,0967	»	100
0,05	0,05	10/1	»	10,4	0,0958	0,0009	99,1
0,1	0,1	5/1	»	10,05	0,0924	0,0043	95,5
0,25	0,25	2/1	»	9,6	0,0882	0,0085	91,2
0,5	0,5	1/1	»	9,1	0,08355	0,01315	86,4
1	1	1/2	»	7,7	0,07045	0,02625	72,8
2	2	1/4	»	5,6	0,0505	0,0462	52,2
3	3	1/6	»	3,1	0,0279	0,0688	28,9
4	4	1/8	»	0,5	0,0040	0,0927	4,1
5	5	1/10	»	0	0,0000	0,0967	0

Lactose (tableau 1)

Nombre de cm ³ de solution de lactose à $\frac{1 \text{ gr., 931}}{100 \text{ cm}^3}$	Nombre de cm ³ de solution de lactose à $\frac{1 \text{ gr., 523}}{100 \text{ cm}^3}$ CNH	Proportion rela- tive de lactose et de CNH, en molécules	Nombre de cm ³ de solution de M ₁₂ O ₁₆ K 1 cm ³ 0 gr., 04004 Cu	Lactose trouvé pour la prise d'essai	Perte en lactose en grammes	Proportion de lactose trouvé pour 100 de lactose initial
0	0	»	12,7	0,0964	»	100
0,05	0,05	10/1	12,6	0,0954	0,0010	98,9
0,1	0,1	5/1	12,3	0,0932	0,0032	96,7
0,25	0,25	2/1	11,8	0,08905	0,00735	92,4
0,5	0,5	1/1	11,1	0,0835	0,0129	86,6
1	1	1/2	10,1	0,0755	0,0209	78,3
2	2	1/4	7,5	0,0550	0,444	57
3	3	1/6	5,4	0,03805	0,05835	39,4
4	4	1/8	2	0,0140	0,0824	14,5
5	5	1/10	0	0,0000	0,0964	0

Lactose (tableau 2)

Nombre de cm ³ de solution de lactose à $\frac{0 \text{ gr., 964}}{100 \text{ cm}^3}$	Nombre de cm ³ de solution de lactose à $\frac{1 \text{ gr., 523}}{100 \text{ cm}^3}$ CNH	Proportion rela- tive de lactose et de CNH, en molécules	Nombre de cm ³ de solution de M ₁₂ O ₁₆ K 1 cm ³ 0 gr., 04004 Cu	Lactose trouvé pour la prise d'essai	Perte en lactose en grammes	Proportion de lactose trouvé pour 100 de lactose initial
0	0	»	6,6	0,0481	»	100
0,05	0,05	5/1	6,3	0,0458	0,0023	95,2
0,1	0,1	2,5/1	6,1	0,0443	0,0048	92,3
0,25	0,25	1/1	5,6	0,0405	0,0076	84,2
0,05	0,05	1/2	4,7	0,0337	0,0144	70
1	1	1/4	3,2	0,0226	0,0255	46,9
2	2	1/6	0	0,0000	0,0481	0

Lactose (tableau 3)

Nombre de cm ³ de solution de 0 gr., 432 lactose à 100 cm ³	Nombre de cm ³ de solution de 1 gr., 523 CNH à 100 cm ³	Proportion rela- tive de glucose et de CNH, en molécules	Nombre de cm ³ de solution de M _n O ⁴ K 4 cm ³ = 0 gr., 01001 Cu	Lactose trouvé pour la prise d'essai	Perte en lactose en grammes	Proportion de lactose trouvé pour 100 de lactose initial
0	0	»	3,4	0,0241	»	100
0,05	0,05	2,5 / 1	3,0	0,0212	0,0029	87,9
0,1	0,1	1,25 / 1	2,55	0,0179	0,0062	74,2
0,25	0,25	1/2	1,85	0,0129	0,0112	53,5
0,5	0,5	1/4	0,4	0,0028	0,0213	11,6
1	1	1/8	0	0,0000	0,0241	0

Gentiobiase

Nombre de c/m ³ de solution de gentio-0gr., 8656 biase à 100 c/m ³	Nombre de c/m ³ de solution de 1 gr., 523 CNH à 100 c/m ³	Proportion rela- tive de gentio- biase et de CNH, en molécules (1)	Nombre de c/m ³ de solution de M _n O ⁴ K 4 c/m ³ = 0 gr., 01001 Cu	Erreur exprimée en c/m ³ M _n O ⁴ K (2)
0	0	»	4,9	»
0.1	0.1	2,5/1	4,7	0,2
0,5	0,5	1/2	3,55	1,35
1	1	1/4	2,6	2,3
2	2	1/8	0	4,9

(1) Les rapports indiqués dans cette colonne, pour être exacts, doivent être multipliés par le coefficient 0,8965.

(2) Il n'existe pas, pour le dosage du gentiobiase par la méthode de BERTRAND, de tables de correspondance entre le sucre et le cuivre passé à l'état d'oxydure. Comme nous n'avions pas à notre disposition une quantité de gentiobiase suffisante pour dresser avec exactitude une telle table, nous avons préféré exprimer l'erreur comme il est indiqué ci-dessous, d'une façon différente de celle adoptée dans les autres tableaux, mais non moins caractéristique.

Vicianose

Nombre de c/m^3 de solution de vicia- 1 gr., 694 nose à 100 c/m^3	Nombre de c/m^3 de solution de CNH à 100 c/m^3	Proportion rela- tive de vicianose et de CNH en molécules (1)	Nombre de c/m^3 de solution de MnO^4K 1 c/m^3 = 0 gr., 01 Cu	Vicianose trouvé pour la prise d'essai	Perte en vicia- nose en grammes	Proportion de vicianose trouvé pour 100 de vicianose initial
3	0	»	10,45	0,0847	»	100
3	0,1	5/1	9,9	0,0829	0,0018	97,9
3	0,5	1/1	8,75	0,0744	0,0103	87,9
3	1	1/2	7,55	0,0648	0,0199	76,5
3	3	1/6	2,70	0,0232	0,0615	27,4
3	5	1/10	0	0,0000	0,0000	0

(1) En réalité, — vérification faite du titre de la solution d'acide cyanhydrique employée, — les rapports indiqués dans cette colonne, pour être rigoureusement exacts, doivent être multipliés par le coefficient 0,9629.

Rhamnose

Nombre de c/m^3 de solution de rhamnose anhydre à 0 gr., 8866 9,1600	Nombre de c/m^3 de solution de CNH à 100 c/m^3	Proportion rela- tive de rham- nose et de CNH, en molécules (1)	Nombre de c/m^3 de solution de MnO^4K 1 c/m^3 = 0 gr., 01 Cu	Rhamnose trouvé pour la prise d'essai	Perte en rham- nose en grammes	Proportion de rhamnose trou- vé pour 100 de rhamnose initial
3	0	»	8,3	0,04433	»	100
3	0,05	10/1	8,2	0,04377	0,00056	98,7
3	0,1	5/1	8	0,04266	0,00167	66,2
3	0,25	2/1	7,5	0,03989	0,00444	90
3	0,5	1/1	6,9	0,03663	0,00770	82,6
3	1	1/2	5,85	0,03092	0,01341	69,7
3	2	1/4	3,65	0,0191	0,02523	43
3	3	1/6	1,2	0,0062	0,03813	14
3	4	1/8	0	0,0000	0,04434	0

(1) En réalité, — vérification faite du titre de la solution d'acide cyanhydrique employée, — les rapports indiqués dans cette colonne, pour être rigoureusement exacts, doivent être multipliés par le coefficient 0,9574.

Comme on le voit d'après les tableaux qui précèdent, le phénomène est tout à fait général quel que soit le sucre envisagé (oses aldéhydriques ou cétoniques, hexoses ou pentose holosides réducteurs divers). Dans tous les cas examinés la présence d'acide cyanhydrique a déterminé des erreurs par défaut, au cours des dosages; si, pour certains sucres, nous avons, à cause de leur rareté, limité le nombre des essais, la preuve n'en est pas moins faite qu'on ne peut prétendre doser rigoureusement un sucre réducteur quelconque par les méthodes envisagées, si de l'acide cyanhydrique existe en même temps dans les liqueurs.

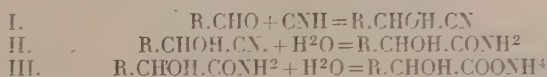
Comme il fallait s'y attendre, la grandeur de l'erreur commise croît avec la quantité d'acide cyanhydrique présente.

Mais d'autre part pour des quantités égales d'acide cyanhydrique, l'erreur est d'autant plus grande que la quantité de sucre en solution est plus petite (c'est bien ce qui résulte de la comparaison des tableaux relatifs au lactose (I, II et III).

DEUXIÈME PARTIE

OBSERVATIONS SUR LES FACTEURS D'ERREUR QUI PEUVENT
INTERVENIR AU COURS DES ESSAIS PRECEDEMMENT
EXPOSES.

A. — Réaction de Kiliani. — Si on cherche à s'expliquer les réactions chimiques qui déterminent la diminution et parfois même la disparition de l'oxydure de cuivre au cours du dosage des sucres réducteurs, comme le glucose, par les liqueurs cupro-alcalines, en présence d'acide cyanhydrique, on est tout d'abord amené à penser que le sucre, en milieu alcalin, réagit avec ce dernier composé suivant la réaction dite de Kiliani (1), qui doit s'accomplir en plusieurs phases, donnant, par exemple, pour les aldoses :



Il n'est pas douteux que cette réaction doive être considérée comme un facteur partiel des erreurs observées dans le dosage des sucres réducteurs en présence d'acide cyanhydrique. Le glucose, par exemple, réagit dans le sens indiqué par les équations précédentes ; avant même que la température de l'ébullition soit atteinte et que la réduction de la liqueur cuivrique soit commen-

(1) On trouvera tous les détails relatifs à la réaction de Kiliani dans les publications suivantes :

Jean PERRIER. — Contribution à l'étude de la réaction de Kiliani. Action des cyanures alcalins sur les sucres réducteurs ; *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1921.

Eugène-Roland LUPU. — Contribution à l'étude de l'action du glucose sur l'acide cyanhydrique au point de vue chimique et toxicologique ; *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1928.

cée, une partie du glucose se trouvera engagée au cours du chauffage dans la réaction susdite et n'agira plus comme agent réducteur sur le sel cuivrique. Une expérience très simple démontre bien d'ailleurs la réalité de cette hypothèse :

a) On a préparé deux échantillons du mélange suivant :

Liqueur sodique (B)	20 cm ³
Liqueur cuivrique (A)	20 —
Solution aqueuse d'acide cyanhydrique à 1 gr. 22 p. 100 cm ³	2 —
— de glucose à 0 gr., 5082 pour 100 cm ²	15 —
Eau distillée	3 —

Le premier échantillon a été immédiatement porté à l'ébullition pendant 3 minutes suivant la méthode habituelle. On a finalement utilisé 10 cm³ de solution de permanganate de potassium (1cm³=0,00996 Cu), ce qui correspond à 0 gr.,0524 de glucose, au lieu de 0 gr. 0762 mis en œuvre ; on a donc retrouvé 0 gr., 687 pour 1 gramme de glucose primitif.

Le deuxième échantillon a été laissé en repos pendant 24 heures à la température du laboratoire ; on n'a plus employé cette fois, dans le dosage, que 6 cm³ 55 de solution de permanganate, ce qui correspond à 0 gr .0333 de glucose ou à 0 gr.,440 pour 1 gramme de glucose originel.

b) Dans un autre essai, on a mélangé ensemble :

Solution de glucose à 1 gr., 016 pour 100 cm ³	5 cm ³
Solution d'acide cyanhydrique à 1,22 pour 100 cm ³	2 —
Eau distillée	13 —
Liqueur sodique (B)	20 —

Après 22 heures de contact à la température ordinaire, on a ajouté :

Liqueur cuivrique (A)	20 cm ³
-----------------------------	--------------------

puis on a terminé le dosage à la façon habituelle ; on a employé seulement alors 3 cm³ 65 de solution titrée de permanganate, ce qui correspond à 0 gr.,0180 de glucose, au lieu de 0 gr.,507 que nous avons trouvé plus haut dans un essai fait sans acide cyanhydrique et au lieu de 0 gr.,0277, chiffre trouvé dans un dosage pratiqué *immédiatement* après addition d'une même quantité (2 cm³) de solution d'acide cyanhydrique.

Les résultats qui précèdent peuvent facilement s'expliquer en admettant que le sucre réducteur, en milieu alcalin, réagit avec

l'acide cyanhydrique, suivant le mode de la réaction de Kiliani. La quantité de glucose qui disparaît ainsi est d'autant plus importante qu'on prolonge le contact et qu'on fait intervenir plus tardivement le chauffage du mélange qui doit faire apparaître l'oxydure de cuivre, de la quantité duquel dépend le résultat final.

B. — Formation de cyanure cuivreux. — La réaction de Kiliani n'est pas le seul facteur d'erreur qui intervient dans le dosage qui nous occupe : c'est ce qui ressort des observations suivantes :

Si on fait bouillir pendant trois minutes le mélange suivant :

Liquueur sodique	20 cm ³
Liquueur cuivrique	20 —
Solution aqueuse d'acide cyanhydrique à 1 gr., 22 p. 100 cm ³ ..	2 —
Eau distillée	18 —

on constate que la liqueur reste absolument limpide et que, filtrée sur un disque de verre poreux, elle n'abandonne aucun précipité (1). Au contraire, si dans l'essai précédent on introduit une quantité de glucose quelconque, 0 gr.,0762 dans l'espèce, on constate que le précipité produit au cours de la réduction n'est pas complètement soluble dans la solution de sulfate ferrique. Ce précipité n'est donc pas composé entièrement d'oxyde de cuivre ; il reste une substance blanchâtre qui présente les caractères du cyanure cuivreux. En effet, une partie de cette substance, traitée par l'acide sulfurique concentré, fournit une solution qui, après dilution avec de l'eau et addition d'ammoniaque en excès, donne une belle coloration bleue ; le ferrocyanure de potassium provoque l'apparition d'un précipité brun rouge, insoluble dans les acides dilués et soluble dans l'ammoniaque en donnant une coloration bleue. D'autre part, la substance insoluble dans la solution de sulfate ferrique, traitée dans un tube à essai par de l'acide sulfurique dilué de son volume d'eau, colore en rouge un papier picro-sodé de GUIGNARD (2) fixé dans la partie inférieure d'un bouchon dont on recouvre le tube.

La même substance, insoluble dans la solution de sulfate ferrique, traitée par une solution aqueuse de soude à 4 à 5 gr. p. 100 cm³, en présence de zinc, fournit une liqueur dans laquelle

(1) Il n'apparaît de précipité dans la liqueur qu'après acidulation.

(2) L. GUIGNARD. — Le Haricot à acide cyanhydrique (*Phaseolus lunatus*) ; Bull. Sc. pharm., XIII, 401-419, 1906.

on peut caractériser l'acide cyanhydrique par ses réactions habituelles (formation de bleu de Prusse par exemple) ; si, d'autre part, on distille la même liqueur après acidification préalable, on obtient un distillat renfermant l'acide cyanhydrique à l'état pur (1).

Il n'est d'ailleurs pas nécessaire de se débarrasser préalablement de l'oxydule de cuivre, par dissolution dans la solution de sulfate ferrique, pour retrouver de petites quantités de cyanure cuivreux qui s'y trouveraient mélangés ; il suffit de traiter l'ensemble du produit de réduction par la solution de soude diluée, en présence de zinc, en laissant en contact à une douce chaleur, jusqu'à décoloration de la liqueur qui prend à l'origine une teinte bleue ; on peut ensuite, dans cette liqueur, caractériser l'acide cyanhydrique.

Les recherches précédentes montrent bien que le précipité mélangé à l'oxydule de cuivre contient à la fois de l'acide cyanhydrique et du cuivre ; étant donnée l'instabilité du cyanure cuivrique, il y avait lieu d'envisager le corps isolé comme étant du cyanure cuivreux, CNCu . Ce corps présente effectivement les caractères physiques du cyanure cuivreux préparé, d'autre part, comme l'indique la note ci-dessous ; il est blanchâtre, granuleux à l'état sec, floconneux en suspension dans l'eau ; il fond à une température élevée, impossible à déterminer exactement, bien au-dessus de 300° , en se décomposant et en dégageant des bulles gazeuses.

Il importait d'ailleurs de déterminer exactement par l'analyse quantitative les constituants du corps isolé, pour pouvoir avec sûreté l'identifier au cyanure cuivreux. On sait, en effet, qu'il existe toute une série de complexes dans lesquels, en dehors de l'acide cyanhydrique et du cuivre, peuvent aussi se rencontrer des métaux alcalins, complexes découverts par RAMMELSBERG (2) et

(1) Nous avons préalablement préparé, par action du cyanure de potassium sur une solution de sulfate cuivrique acidulée par l'acide sulfurique, une certaine quantité de cyanure cuivreux sur laquelle nous avons pratiqué ces divers essais de caractérisation. En traitant à une douce chaleur ce cyanure cuivreux par la soude et le zinc, comme cela vient d'être indiqué, puis en distillant après acidification, on a retrouvé dans le liquide distillé 92 à 93 p. 100 de la quantité théorique d'acide cyanhydrique correspondant au cyanure mis en œuvre.

(2) C. RAMMELSBERG. — Ueber die einfachen und doppelten Cyanmetalle; *Pogg. Ann.*, XLII, 124-131, 1837. — Ueber ein neues Kaliumkupfercyanür; *Pogg. Ann.*, LXXIII, 117-118, 1848. — Ueber die Form und Zusammensetzung der Doppelcyanüre von Kalium und Kupfer; *Pogg. Ann.*, CVI, 491-494, 1859.

SCHIFF et BECCHI (1) et étudiées postérieurement par TREADWELL et GIRSEWALD (2) ; parmi ces complexes, on a décrit un composé de formule $\text{Cu}(\text{C N})^2 \text{K}$ qui est presque insoluble dans l'eau et de couleur blanche ; à vrai dire ce composé ne se produit qu'en présence d'un excès d'acide cyanhydrique et, de plus, il se décompose par les acides, propriétés qui permettent de conclure à son absence dans le composé que nous étudions ici ; en tout cas, l'analyse quantitative de ce dernier s'imposait.

Pour pouvoir réaliser cette analyse, il nous fallait tout d'abord disposer d'une quantité appréciable du corps en question à un complet état de pureté.

Nous avons commencé par préparer, en les filtrant sur du coton de verre, les différentes solutions nécessaires au dosage des sucres réducteurs par la méthode de Bertrand ; ces solutions n'ont été utilisées qu'après un assez long repos, lorsqu'elles présentaient une limpidité parfaite. Nous avons fait réagir le mélange de solution alcaline et de solution cuivrique sur les solutions de glucose dans les proportions et dans les conditions indiquées par Bertrand, en présence d'acide cyanhydrique ; puis les précipités obtenus, recueillis sur une plaque de verre poreuse, ont été lavés largement à l'eau chaude et traités par la solution limpide de sulfate ferrique ; après nouveau lavage à l'eau, il restait un résidu non dissous qui a été détaché de la plaque poreuse par un jet de pissette et transvasé dans une capsule de porcelaine ; après décantation de l'eau surnageante, le précipité était desséché dans la capsule même d'abord à l'étuve à 33° puis à 100° (3).

(1) H. SCHIFF et E. BECCHI. — Ueber ammoniakalische Kupfercyanüre; Lieb. Ann., CXXXVIII, 24-36, 1866.

(2) F.P. TREADWELL et C. V. GIRSEWALD. — Ueber die Nichtfallbarkeit des Knufers durch Schwefel-wasserstoff aus cyankaliumhaltiger Lösung; Ztschr. f. anorg. Chem., XXXVIII, 92-100, 1904.

(3) Voici à titre d'exemple une des opérations faites en vue de l'obtention de ce précipité :

On fait bouillir trois minutes le mélange suivant :

Solution alcaline (B)	200 cm^3
Solution cuivrique (A)	200 —
Eau distillée	200 —
Glucose	0 gr. 60
Solution d'acide cyanhydrique à $\frac{1 \text{ gr.}, 523}{100 \text{ cm}^3}$	15 cm^3

Le précipité d'oxydure de cuivre, mélangé du cyanure cuivreux présumé, a été ensuite traité comme il vient d'être dit.

Quatre à cinq opérations analogues fournissent en tout environ 0 gr., 35 à 0 gr., 40 du produit cherché, à l'état sec.

Toutes ces précautions peuvent paraître superflues ; elles sont cependant nécessaires si l'on veut tirer quelque certitude d'un dosage pratiqué sur une petite quantité d'un produit insoluble par nature, décomposable par la chaleur et impossible par là même à purifier.

I. Détermination du cuivre par calcination. — Pour doser le cuivre, nous avons cru devoir utiliser la propriété que possèdent les cyanures de métaux lourds de se décomposer par calcination en donnant comme résidu le métal ou l'oxyde métallique correspondants. L'oxyde cuivreux obtenu dans ces conditions à partir du cyanure cuivreux se trouve à peu près transformé en oxyde cuivrique ; pour obtenir une transformation complète pouvant servir de base à une détermination quantitative on arrose le résidu de calcination de quelques gouttes d'acide azotique, on calcine de nouveau et on pèse finalement l'oxyde cuivrique obtenu.

On peut espérer par ce procédé aboutir à un résultat très précis du fait que toutes les opérations sont exécutées dans le même récipient, sans précipitations ni lavages, et ne comportent pas, par conséquent, les causes d'erreurs que de telles manipulations sont susceptibles de provoquer.

Nous avons d'abord fait des essais de dosage sur le cyanure cuivreux préparé par nos soins, à titre de comparaison (voir page 20) ; 0 gr.,2773 de ce cyanure, desséché à 100°, ont été chauffés dans un creuset de porcelaine dont on a lentement élevé la température. Le corps a fondu en se décomposant et en donnant une masse spongieuse noirâtre qui a été additionnée, après refroidissement, de quelques gouttes d'acide azotique. Le creuset ayant été couvert pour éviter les projections, on a de nouveau chauffé progressivement pour décomposer le nitrate de cuivre formé. A ce moment on a observé que la flamme chauffante prenait, à partir des bords du creuset, une couleur verte qui a disparu après quelques minutes ; on a chauffé jusqu'au rouge naissant puis laissé refroidir dans un exsiccateur à acide sulfurique. Pour éviter toute hydratation du résidu pendant la pesée, cette dernière a été effectuée avec une balance à pesées rapide sur les plateaux de laquelle on avait préalablement disposé les poids approximatifs nécessaires. On a obtenu ainsi 0 gr.,2424 d'oxyde cuivrique, OCu Théorie : cal-

culé en OCu, 0 gr.,2462, d'où une erreur par défaut de 0,2462—0,2424=0 gr.,0038, soit 1,36 pour 100.

Or, nous n'avions pas lieu de douter de la pureté du cyanure cuivreux mis en œuvre, que nous avons préparé et desséché avec tout le soin possible ; il était bien certain, d'autre part, qu'il fallait exclure la possibilité d'une transformation incomplète de notre corps en azotate de cuivre. Il y avait donc lieu d'incriminer la méthode de dosage employée et nous étions d'autant plus fondé à le faire que nous avons constaté au cours de l'opération une coloration verte de la flamme chauffante, indice d'une perte de cuivre par volatilisation et que les parties supérieures du creuset étaient recouvertes d'un enduit noir, à un endroit où à l'origine n'existait pas d'oxyde de cuivre.

En fait, on a constaté qu'une nouvelle calcination du creuset et de son contenu ne donnait lieu à aucune coloration de la flamme et ne déterminait aucune variation de poids ; mais il en était tout autrement si, avant de pratiquer une nouvelle calcination, le résidu était préalablement arrosé de quelques gouttes d'acide azotique. Toute calcination nouvelle effectuée dans de telles conditions donnait lieu à des pertes successives de poids comme il résulte des données suivantes :

	Poids de OCu obtenu (théorie : 0 gr. 2462)	Perte	Perte p ^r 100
Après une 1 ^{re} calcination avec NO.H..	0 gr., 2424	0,0038	1,36
— 2 ^e —	.. 0 gr., 2398	0,0064	2,34
— 3 ^e —	.. 0 gr., 2368	0.0094	3,38

D'après les chiffres qui précèdent, on voit que, approximativement, chaque calcination en présence d'acide azotique a fait perdre au précipité un poids voisin de 0 gr. 003 ; si nous tenons compte d'une telle perte pour corriger le résultat de notre dosage nous voyons que celui-ci nous aurait conduit à une valeur de 0 gr.,2454, correspondant à une perte très tolérable de 0,36 pour 100.

II. Détermination du cuivre par précipitation. — Néanmoins, nous avons pensé qu'il était préférable d'utiliser une méthode de dosage ne donnant lieu à aucune incertitude et nous avons essayé

de titrer le cuivre, à l'état d'oxyde, dans le cyanure cuivreux, par dissolution de celui-ci dans un acide, et précipitation à chaud par un alcali, après élimination de l'acide cyanhydrique.

On a pesé dans une capsule 0 gr.,4000 de cyanure cuivreux qu'on a traité par quelques gouttes d'acide azotique à une douce chaleur ; après dissolution, on a ajouté de l'eau puis quelques gouttes d'acide sulfurique et on a évaporé pour éliminer l'acide azotique et la majeure partie de l'acide sulfurique en excès, de telle sorte que nous nous sommes trouvé en présence d'une solution acide de sulfate cuivrique. On a fait avec de l'eau un volume d'environ 200 cm³ ; on a chauffé jusqu'à l'ébullition et ajouté alors de la lessive de soude diluée jusqu'à réaction légèrement alcaline ; l'ébullition a été ensuite continuée pendant 10 minutes. On a laissé déposer puis filtré sur un papier sans cendres, lavé le précipité avec de l'eau chaude par décantations successives ; puis, finalement, entraîné le précipité lui-même sur le filtre ; on s'est assuré que les eaux de lavage ne donnaient plus la réaction de l'acide sulfurique.

Le précipité, après dessiccation, a été séparé du filtre ; ce dernier a été calciné dans un creuset taré ; la très petite quantité de précipité qu'il avait retenu a été oxydée par une seule goutte d'acide azotique, ce qui, étant donné la faible quantité d'oxyde de cuivre en présence, ne peut déterminer par volatilisation d'erreur appréciable sur le résultat final du dosage. Le précipité mis à part a été ensuite introduit dans le creuset et calciné à son tour ; le creuset a été refroidi sur l'acide sulfurique et pesé avec les mêmes précautions que précédemment.

Oxyde de cuivre trouvé.....	0 gr., 3559
— calculé	0 gr., 3553
Erreur	0 gr., 0006

soit une erreur par excès de 0,15 pour 100.

Nous avons répété les dosages de cuivre sur plusieurs autres prises de cyanure cuivreux et nous avons obtenu des résultats aussi satisfaisants, avec des approximations analogues (0,15 à 0,35 pour 100) ; nous avons alors appliqué la méthode précédente de dosage du cuivre au résidu insoluble dans le sulfate ferrique, isolé précédemment (p. 21) au cours du dosage par la méthode de

BERTRAND de liqueurs sucrées contenant de l'acide cyanhydrique.

0 gr. 1654 du produit ainsi préparé ont fourni un poids d'oxyde de cuivre de 0 gr. 1472, alors que théoriquement la même quantité de cyanure cuivreux donnerait 0 gr. 1467 d'oxyde de cuivre ; le dosage a donc conduit à une différence de 0 gr. 0005 soit 0,34 pour 100 ; la concordance est aussi bonne que possible et nous pouvons ainsi conclure que le produit examiné contient la même quantité de cuivre que le cyanure cuivreux.

III. Détermination de l'acide cyanhydrique. — Voyons maintenant s'il en est de même pour le radical —CN.

Comme pour le dosage du cuivre, nous avons d'abord expérimenté sur du cyanure cuivreux authentique, dans le but de fixer une technique nous permettant de doser exactement l'acide cyanhydrique dans ce cyanure cuivreux.

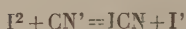
Tout d'abord, nous avons essayé de distiller ce dernier en présence d'acide sulfurique à des concentrations diverses, en recueillant dans une liqueur alcaline l'acide cyanhydrique dégagé ; on procédait ensuite à la détermination de ce dernier par un titrage volumétrique, suivant la méthode de Liebig-Denigès. Les divers essais faits dans cette direction ne nous ont pas conduit à des résultats satisfaisants, car nous avons toujours obtenu des quantités d'acide cyanhydrique très inférieures aux quantités théoriques.

D'autre part, nous avons tenté de transformer en détermination quantitative le procédé qui permet de caractériser l'acide cyanhydrique dans le cyanure cuivreux, en précipitant le cuivre sur le zinc en liqueur fortement alcaline, filtrant pour séparer l'excès de zinc et titrant l'acide cyanhydrique passé à l'état de cyanure dans la solution, par la méthode Liebig-Denigès. Cette technique nous a donné toujours des erreurs par défaut, supérieures à 2 pour 100. Finalement nous avons essayé d'appliquer au dosage de l'acide cyanhydrique dans le cyanure cuivreux, le procédé proposé par RUPP (1) pour les cyanures solubles.

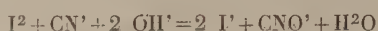
On sait que l'iode réagit de différentes manières sur les cyanu-

(1) E. RUPP. — Ueber titrimetrische Bestimmungen und Trennungen von Cyaniden, Rhodaniden und Chloriden; *Arch. der Pharm.*, CCXLIII, 458-467, 1905.

res, suivant l'alcalinité du milieu dans lequel s'opère la réaction: En présence de bicarbonate de potassium il se fait de l'iodure de cyanogène,



tandis que, en présence d'un alcali ou d'un carbonate alcalin, il se fait un cyanate

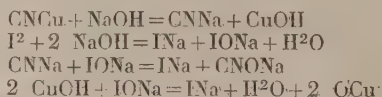


Les deux réactions sont complètes et, de part et d'autre, pour une molécule de cyanure entre en jeu une molécule (deux atomes) d'iode. Sur la première de ces réactions qui est instantanée, repose la méthode de dosage de FORDOS et GÉLIS ; par acidification on peut régénérer tout l'iode primitif ; la seconde réaction se développe lentement et lorsqu'elle est terminée, il n'est pas possible par acidification, de régénérer l'iode entré en réaction avec le cyanure ; elle constitue le fondement de la méthode de dosage de RUPP.

Le cyanure cuivreux étant insoluble dans les solutions aqueuses de bicarbonate de potassium, la méthode de dosage de FORDOS et GÉLIS se montrait inutilisable dans notre cas ; on pouvait par contre espérer pouvoir utiliser la méthode de dosage de RUPP en l'adaptant à ce cas spécial.

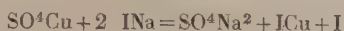
Mais dans le cyanure cuivreux, $CNCu$, nous n'avons pas que le radical cyané qui soit susceptible de s'oxyder par l'iode en milieu alcalin, nous avons aussi le cuivre Cu' qui passe à l'état de Cu'' et pour chaque molécule de cyanure cuivreux, $CNCu$, nous aurons ainsi consommé non seulement deux atomes d'iode nécessaires à l'oxydation de CN' mais, en plus de ces deux atomes, un troisième atome nécessaire à l'oxydation de Cu'' .

La suite des réactions qui vont se passer dans le mélange (alcali, cyanure cuivreux et iode) sera la suivante :



Si nous séparons par filtration l'oxyde cuivrique formé et si nous acidulons par l'acide sulfurique la liqueur restante nous obtiendrons l'iode régénérable, qui pourra être titré par l'hyposulfite de sodium. La réaction aura consommé 3 atomes d'iode.

Mais si, au contraire, nous ne séparons pas l'oxyde cuivrique et si nous acidulons la totalité du mélange nous obtiendrons un sel cuivrique, du sulfate cuivrique dans l'espèce, qui en présence d'iode de sodium redonnera un sel cuivreux suivant la réaction



finalement nous n'aurons plus consommé alors que 2 atomes d'iode.

Plusieurs essais ont été pratiqués sur du cyanure cuivreux, dans les conditions qui viennent d'être indiquées, en titrant l'iode soit après séparation de l'oxyde cuivrique et acidification, soit simplement après acidification sans séparation de l'oxyde de cuivre.

Avant de passer à la description de ces divers essais, nous devons faire remarquer que RUPP avait indiqué que la rapidité de la réaction augmente avec la concentration du mélange en alcali; jusqu'à ce qu'on ait utilisé 10 cm³ de solution de soude normale pour 25 cm³ de solution d'iode décimormale, nous avons en réalité vu qu'en présence de *cyanure cuivreux*, corps insoluble dans l'eau, il y avait avantage à opérer dans des solutions alcalines deux à trois fois plus concentrées.

Essais de dosage du cyanure cuivreux après séparation de l'oxyde cuivrique. — 0 gr. 1000 de cyanure cuivreux finement pulvérisé ont été introduits dans un vase d'Erlenmeyer de 200 cm³ de capacité avec 50 cm³ d'eau ; on a ajouté 5 cm³ de lessive de savonniers et laissé en contact pendant environ deux minutes ; on a ensuite versé lentement 50 cm³ de solution décimormale d'iode afin de profiter le plus possible du potentiel oxydant de l'iode, plus élevé aux premiers moments de l'addition (1).

Dès les premières gouttes d'iode, la liqueur prend une coloration bleu violacé rappelant celle des solutions de cyanate de cuivre, puis elle devient verdâtre et donne progressivement un précipité floconneux possédant la couleur bleue de l'hydrate d'oxyde cuivrique. Après un contact d'une heure à la température ordinaire, on porte le mélange au bain-marie bouillant pendant une heure ; on voit alors le précipité, qui occupait primitivement un

(1) J. BOUGAULT. — Action de l'iode sur les alcalis; emploi du réactif (iode+alcali) en analyse chimique; *Journ. Pharm. et Chim.*, [7], XV, 33-45, 1919.

grand volume, devenir noir et se rassembler peu à peu au fond du vase ; en même temps la liqueur qui tenait ce précipité en suspension devient incolore et transparente.

On sépare alors l'oxyde cuivrique, par filtration sur une plaque de verre poreuse ; on le lave avec un peu d'eau et les liqueurs filtrées sont acidifiées par addition d'acide sulfurique dilué au dixième ; l'iode mis en liberté est titré par la solution décinormale d'hyposulfite de sodium.

Ainsi, dans un dosage portant sur 0 gr.,1000 de cyanure cuivreux, on a utilisé 16 cm³ 8 de cette dernière solution ; comme on avait employé à l'origine 50 cm³ de solution décinormale d'iode, il en résulte que 50—16.8=33 cm³ 2 (=0 gr.,42137 d'iode) de cette dernière sont entrés en réaction avec le cyanure cuivreux (poids moléculaire=89,57). La réaction nécessitant, comme on l'a dit plus haut, 3 atomes d'iode (126,92×3=380,76), si on désigne par x le poids du cyanure cuivreux retrouvé par cette méthode, on aura : $\frac{89,57}{380,76} = \frac{x}{0,42137}$, d'où $x = \frac{89,57 \times 0,42137}{380,76} \equiv$ 0 gr. 0991, alors que la prise d'essai était de 0 gr.,1000.

D'autres essais nous ont fourni des résultats aussi satisfaisants ; ainsi pour des mêmes prises d'essai de 0 gr.,1000 nous avons retrouvé, au cours de différents dosages : 0 gr.,0994, — 0 gr.,0994, — 0 gr.,0997, — 0 gr., 0997 de cyanure cuivreux.

La méthode s'est montrée également bonne quand on opère sur des prises d'essai inférieures à 0 gr.,1000.

Ainsi, en partant de 0 gr.,0500 de cyanure cuivreux, nous avons retrouvé 0 gr.,0498 de ce dernier, et, en partant de 0 gr.,0250 on a retrouvé 0 gr.,0250. Au cours de ces deux derniers essais, on avait seulement utilisé 3 cm³ de lessive de soude et 25 cm³ de solution décinormale d'iode.

Cette méthode de dosage du cyanure cuivreux donne donc d'excellents résultats, si l'on prend soin d'éviter deux causes d'erreur que nous avons observées au cours de nos premiers essais. L'une de ces causes d'erreur résulte de l'oxydation incomplète de l'oxyde cuivreux en oxyde cuivrique, elle se révèle par la présence de granulations rouges qu'on observe au sein de la masse de ce dernier ; on peut l'éviter en employant une prise d'essai très fine-

ment pulvérisée et en élevant lentement la température du bain-marie lorsqu'on chauffe le mélange, après une heure de contact à la température ordinaire. La seconde cause d'erreur réside dans une incomplète précipitation du cuivre à l'état d'oxyde cuivrique; ce phénomène se révèle aisément par ce fait qu'au cours de l'acidification faite graduellement des liqueurs séparées du précipité d'oxyde de cuivre, — en vue de régénérer l'iode, — il se produit à un moment donné une coloration blene passagère qui est ensuite masquée par l'iode mis en liberté. L'erreur provenant de ce fait peut être facilement évitée en maintenant suffisamment de temps (une heure) le mélange au bain-marie bouillant.

Essais de dosage du cyanure cuivreux sans séparation de l'oxyde cuivrique. — Dans ce procédé, on suit tout d'abord une marche exactement semblable à celle décrite dans la précédente méthode en utilisant les mêmes quantités de lessive de soude et de solution décinormale d'iode, laissant réagir pendant une heure à la température ordinaire, puis chauffant ensuite doucement au bain-marie. A ce dernier stade, il importe de ne pas attendre une transformation complète de l'hydrate cuivrique en oxyde noir de cuivre qui, après un long temps de chauffage, serait difficilement attaquable par l'acide sulfurique dilué. Ce dernier est ajouté avec précaution jusqu'à réaction acide; l'oxyde cuivrique se dissout, en même temps qu'il se fait un précipité d'iodure cuivreux blanc, $I\ Cu$, au sein du liquide teinté par l'iode régénéré; après deux minutes, on titre ce dernier au moyen de la solution décinormale d'hyposulfite de sodium. Il est difficile d'observer la décoloration finale par suite de la présence du fin précipité d'iodure cuivreux en suspension dans le liquide; aussi, un peu avant la fin du titrage, est-il bon de filtrer le mélange sur une plaque de verre poreux et de terminer la décoloration, au moyen de l'hyposulfite, sur la liqueur limpide.

Ainsi, dans un dosage portant sur 0 gr., 1000 de cyanure cuivreux, on a utilisé, pour le titrage de l'iode libéré, 27 cm^3 6 de solution décinormale d'hyposulfite de sodium; il était donc entré en réaction une quantité d'iode représentée par $50 - 27,6 = 22\text{ cm}^3$ 4 ($= 0\text{ gr.}, 2843$ d'iode). Comme on l'a dit plus haut (p. 27) la réaction sur laquelle s'appuie notre procédé de dosage réclame 2

atomes d'iode ($126,92 \times 2 = 253,84$) de telle sorte que le poids de cyanure retrouvé, dans le cas présent $X = \frac{89,57 \times 0,2843}{253,84} = 0 \text{ gr. } 1003$, alors que la prise d'essai était de 0 gr. 1000.

Ce procédé de dosage du cyanure cuivreux, sans séparation préalable de l'oxyde cuivrique précipité, nous a donc, comme la première méthode (dans laquelle on pratique la séparation de ce précipité), donné de bons résultats ; toutefois ces derniers n'ont été constants, au cours des diverses expériences faites à ce sujet, que pour des dosages portant sur des prises d'essai de 0 gr.,0500 à 0 gr.,1000. En outre cette méthode de dosage est assez délicate à appliquer, tant du fait de la redissolution parfois difficile de l'oxyde cuivrique précipité, que de la détermination précise de la fin du dosage de l'iode par l'hyposulfite, dans une liqueur qui tend à se recolorer lentement à l'air.

Pour ces raisons nous pensons que, dans la pratique du dosage du cyanure cuivreux, il vaut mieux donner la préférence à la première technique décrite, celle qui consiste à pratiquer le dosage final d'iode dans une liqueur débarrassée par filtration de l'oxyde cuivrique précipité.

Aussi est-ce cette technique qui a été appliquée à l'essai du précipité produit au cours du dosage des sucres réducteurs, par la méthode de Bertrand, dans les solutions contenant en même temps de l'acide cyanhydrique.

0 gr.,0868 de ce précipité (1) ont nécessité 29 cm³ de solution décijnormale d'iode (=0 gr.,3680) correspondant, dans l'hypothèse du cyanure cuivreux à $x = \frac{89,57 \times 0,3680}{380,76} = 0 \text{ gr. } 0866$.

Il s'agit donc bien de cyanure cuivreux.

Les petites quantités d'acide cyanhydrique introduites dans la liqueur soumise au dosage, — même dans la proportion de 0,10 mol. de CNH pour une molécule de glucose, — donnent toujours

(1) Il s'agit du produit sur lequel a déjà été effectué le dosage du cuivre à l'état d'oxyde (p. 23).

lieu à la formation d'un précipité blanchâtre (cyanure cuivreux) qui vient se mélanger à l'oxydule de cuivre et n'est pas dissous par la liqueur ferrugineuse. Le fait qu'un tel précipité n'apparaît qu'en présence de glucose et ne se montre jamais en l'absence de ce dernier, indique bien qu'il y a lieu de considérer le sucre réducteur comme engagé dans les réactions qui conduisent à l'apparition de ce précipité, qui intervient ainsi comme un facteur d'erreur du dosage.

C. — Solubilisation de l'oxydule de cuivre par l'acide cyanhydrique. — Une autre cause d'erreur importante, résultant de la présence d'acide cyanhydrique, vient de la solubilisation par ce dernier de l'oxydule de cuivre précipité. En effet, l'oxydule de cuivre précipité par réduction au sein d'une liqueur cupro-alcaline est partiellement dissous par addition de petites quantités d'acide cyanhydrique dans cette liqueur. C'est ce que montre l'expérience suivante. On dispose les trois mélanges :

	1	2	3
Liquueur sodique	20 cm ³	20 cm ³	20 cm ³
Liquueur cuivrique	20 —	20 —	20 —
Sol. de glucose à 1 gr., 0164 par 100 cm ³ ..	5 —	5 —	5 —
Eau distillée	15 —	15 —	13 —
Solution aqueuse de CNH à 1 gr., 5228 pour 100 cm ³			2 —

On fait bouillir chaque liqueur pendant trois minutes ; on ajoute alors au mélange n° 2 deux centimètres cubes de solution aqueuse d'acide cyanhydrique à 1 gr., 5228 pour 100 cm³, on agite et on laisse reposer pendant 5 minutes. On recueille ensuite respectivement l'oxydule de cuivre provenant de chacun des mélanges, on le dissout dans la solution de sulfate ferrugineux et on le titre par la solution de permanganate de potassium (1 cm³ = 0 gr., 01001 Cu) ; voici les quantités de cette dernière solution qui ont été employées :

1	2	3
9 cm ³ 8	6 cm ³ 2	4 cm ³ 6

On a fait une expérience analogue, mais en faisant intervenir, dans les mélanges 2 et 3, 4 cm³ de solution aqueuse d'acide cyanhydrique, au lieu des 2 cm³ mis en œuvre dans l'expérience précédente :

cédente ; voici les volumes de la solution de permanganate de potassium finalement utilisés :

1	2	3
9 cm ³ 8	3 cm ³ 85	Il ne s'était pas fait de précipité d'oxydule de cuivre.

Il est d'ailleurs facile de constater que l'oxydule de cuivre, bien lavé, mis en suspension dans une solution de soude diluée, se dissout facilement, par addition d'acide cyanhydrique, pour donner un cyanure double de cuivre et de sodium, $\text{Cu}(\text{CN})^4\text{Na}^3$; il en va de même lorsque cet oxydule de cuivre se trouve en suspension dans le mélange de liqueur cuivrique et de liqueur sodique utilisé dans le dosage des sucres réducteurs.

Cette dissolution de l'oxydule de cuivre est, comme on le voit, un facteur important de l'erreur par défaut constatée, en présence d'acide cyanhydrique, dans le dosage des sucres réducteurs basé sur la détermination de l'oxydule de cuivre préalablement recueilli.

On peut juger d'ailleurs, par l'ensemble de ce qui précède, de la complexité des facteurs qui interviennent dans cette erreur.

TROISIÈME PARTIE

COMMENT DOSER CORRECTEMENT LES SUCRES REDUCTEURS EN PRESENCE D'ACIDE CYANHYDRIQUE

Le problème qui se pose maintenant est de chercher les moyens propres à éviter les erreurs précédemment signalées au cours du dosage des sucres réducteurs, lorsque les solutions de ces derniers renferment en même temps de l'acide cyanhydrique.

Rappelons tout d'abord qu'à un point de vue tout à fait général, les méthodes de détermination des sucres réducteurs par les liqueurs cupro-alkalines peuvent être rangées en deux grands groupes ; dans le premier de ces groupes prennent place les méthodes volumétriques dans lesquelles on prend comme terme du dosage la décoloration d'un volume déterminé de liqueur cupro-alkaline titrée par la solution sucrée à doser. Le second comprend les méthodes dans lesquelles la réduction est opérée en présence d'un excès de liqueur cupro-alkaline ; le dosage se termine soit par le titrage de l'oxydure de cuivre, OCu^2 , qui a été précipité, soit par le titrage du composé cuivrique en excès non réduit à l'état d'oxydure (ex. : méthode de LEHMANN).

L'influence de l'acide cyanhydrique, au cours du dosage des sucres réducteurs, doit être évidemment variable suivant les méthodes de titration employées et nous n'avons pas pu au cours de ce travail étudier une telle variation pour toutes les nombreuses techniques proposées pour le dosage des sucres réducteurs. Nous avons, comme on l'a vu précédemment, envisagé surtout l'influence de l'acide cyanhydrique dans les dosages dont le terme final est la détermination de l'oxydure de cuivre précipité (type méthode de BERTRAND) et nous avons passé successivement en revue les divers facteurs d'erreur qui interviennent.

A. Dosage volumétrique par les liqueurs cupro-alcalines. — Parmi les facteurs d'erreurs dus à la présence d'acide cyanhydrique dans le dosage des sucres réducteurs par la méthode de BERTRAND, nous avons vu qu'il en est deux dont l'importance est certainement prédominante, l'un résultant de la transformation du sucre en nitrile, puis en acide, suivant la réaction de Kiliani, l'autre venant de redissolution, par le cyanure alcalin présent dans la liqueur, d'une partie de l'oxydule formé par action réductrice du sucre.

Il était raisonnable de penser que, dans le titrage volumétrique des sucres par décoloration des liqueurs cupro-alcalines, on pourrait voir s'atténuer et peut-être disparaître l'influence néfaste de l'acide cyanhydrique. Dans un tel titrage, en effet, la liqueur sucrée étant versée dans le réactif bouillant, il y a action réductrice immédiate du sucre sur le composé cuivrique et on peut penser qu'il n'y aura pas place alors pour la réaction de Kiliani ; d'autre part, la question de redissolution de l'oxydule de cuivre dans le cyanure alcalin n'a plus à intervenir, puisque le terme final du dosage qui réside dans la décoloration complète de la liqueur ne repose plus dans la détermination quantitative de cet oxydule.

En fait, nous avons constaté que, même en présence d'acide cyanhydrique, la méthode de dosage volumétrique du glucose par décoloration d'une liqueur cupro-alcaline peut conduire à des résultats sensiblement précis (1).

Ainsi, en nous servant de liqueur dite de Violette (10 cm³ = 0 gr.,05 glucose), nous avons dosé volumétriquement le glucose dans les deux solutions suivantes :

	1	2
Solution de glucose à 1 gr., 0164 pour 100 cm ³	15 cm ³	15 cm ³
Sol. d'acide cyanhydrique à 1 gr., 22 pour 100 cm ³ .	0	2 —
Eau distillée Q. S. pour.....	30 —	30 —

(Soit, glucose 0,0508 pour 10 cm³ des deux solutions.)

(1) Ces dosages ont toujours été effectués dans des tubes dits à glucose suivant la technique dont on trouvera les détails dans le travail suivant :

Em. BOURQUELOT et L. GRIMBERT. — Documents relatifs au dosage des matières sucrées ; *Journ. de Pharm. et de Chim.*, [5], XIX, 465-473, 1889.

Pour décolorer 10 cm³ de liqueur de Violette, il a fallu

	1	2
1 ^{er} essai	9 cm ³ 75	9 cm ³ 82
2 ^e essai	9 cm ³ 82 (1)	9 cm ³ 85

ce qui correspond, en glucose, pour 10 cm³ de solution, à

1	2
0,0512	0,0509
0,0509	0,0508

La présence d'acide cyanhydrique ne paraît donc pas avoir faussé le dosage pratiqué par voie volumétrique. D'autre part, des dosages, effectués à titre de comparaison sur les solutions 1 et 2 par la méthode de Bertrand, ont donné en glucose, pour 10 cm³

1	2
0,0510	0,0423

soit, pour la solution 2, une différence de 0,0510—0,0423 = 0 gr.,0087, ce qui correspond à une perte de 17 p. 100.

Nous avons obtenu, toujours par dosage volumétrique, des résultats aussi satisfaisants même en opérant sur des liqueurs sucrées contenant des quantités d'acide cyanhydrique supérieures à celles déjà envisagées. Ainsi, nous avons opéré sur la solution suivante, à 0 gr.,5082 de glucose pour 100 cm³ :

Solution de glucose à $\frac{1 \text{ gr., } 0164}{100 \text{ cm}^3}$	25 cm ³
Solution d'acide cyanhydrique à $\frac{1 \text{ gr., } 523}{100 \text{ cm}^3}$	10 —
Eau	Q. S. pour.... 50 —

En ayant soin d'opérer rapidement, sans interrompre l'ébullition, il nous a fallu 9 cm³,9 pour décolorer 10 cm³ de liqueur de Violette (trouvé : glucose, 0 gr.,5050 pour 100 cm³). En faisant durer l'opération pendant 10 minutes, il nous fallait utiliser, par contre, 10 cm³ 6 de solution sucrée (trouvé: glucose, 0 gr.4710 pour 100 cm³).

Pour apprécier plus facilement la décoloration de la liqueur cupro-alcaline par la solution sucrée il est bon de filtrer rapide-

(1) On utilisait une burette divisée en vingtièmes de centimètre cube, dont on pouvait aisément apprécier la demi-division.

ment la liqueur bouillante sur une plaque de verre poreuse, au moment où la teinte bleue devient à peine appréciable et de terminer le titrage dans la liqueur filtrée.

A la vérité des quantités massives d'acide cyanhydrique sont à elles seules capables de décolorer de petits volumes de liqueur cupro-alkaline, mais ce sont là des conditions que ne se présentent pas dans la pratique courante des recherches biologiques.

Nous avons fait quelques essais de dosage volumétrique du glucose par la méthode de CAUSSE-BONNANS et nous avons observé qu'en présence d'acide cyanhydrique, il se faisait également une recoloration rapide des liqueurs soumises à la titration.

Voici les résultats trouvés en opérant sur une solution contenant 0 gr.,5082 de glucose pour 100 cm³ et de quantités croissantes de solutions d'acide cyanhydrique ; les dosages ont été effectués en des temps de 4 minutes.

Acide cyanhydrique pour 100 ^{cm} ³ de la liqueur sucrée	Volumes de liqueur sucrée utilisés à la décoloration			Glucose trouvé pour 100 cm ³
	I	II	moyenne	
0	8,6	8,7	8,65	0,5082
0 gr., 0739	8,8	8,8	8,8	0,4990
0 gr., 1848	8,8	8,9	8,95	0,4960
0 gr., 3697	9	9	9	0,4880

Malheureusement des difficultés très grandes se présentent dans l'appréciation du terme final du dosage pratiqué par vie volumétrique.

Ainsi, — si nous considérons en particulier la méthode de Fehling, — lorsqu'on opère en présence d'acide cyanhydrique, on peut voir que le précipité d'oxydure qui se forme, — comme cela se passe aussi dans le dosage suivant la technique de Bertrand, — est beaucoup plus léger qu'habituellement et se dépose très lentement ; il en résulte une difficulté très grande dans l'appréciation de la décoloration finale, en même temps que l'opération doit être poursuivie pendant un temps anormal. Or, il y aurait, au contraire, grand intérêt à effectuer l'opération rapidement. En effet, il réapparaît dans la liqueur à doser une coloration bleue dont l'intensité croît très vite en présence d'acide cyanhydri-

que (1). Il en résulte qu'on ne peut guère apprécier le terme du dosage que par l'absence de réduction, traduite par un anneau rouge, qui apparaît quelques secondes après la chute des gouttes de liqueur sucrée à la surface de la liqueur cupro-alkaline bouillante ; si le terme de la réduction est atteint, cette dernière, filtrée rapidement sur un disque de verre poreux, ne donne plus d'ailleurs, au moins immédiatement, d'oxydure de cuivre par affusion de quelques gouttes de liqueur sucrée.

En somme on voit que comme nous l'avons indiqué plus haut, le dosage volumétrique direct des sucres réducteurs, déjà délicat à effectuer avec précision en l'absence d'acide cyanhydrique, devient, du fait de la présence de ce dernier, extrêmement difficile; aussi avons-nous renoncé à utiliser ces procédés d'application véritablement délicate.

B. Elimination de l'acide cyanhydrique. — L'élimination de l'acide cyanhydrique des liqueurs sucrées à doser apparaît évidemment, de prime abord, comme un des moyens les plus sûrs de supprimer toute cause d'erreur apportée par cet acide ; encore est-il nécessaire que cette élimination puisse se faire sans modifications concomitantes du titre de la liqueur en sucre.

Pour éliminer l'acide cyanhydrique, qui est un composé très volatile, on peut envisager l'emploi de la chaleur ou d'un courant d'air à la température ordinaire ; on peut également engager l'acide cyanhydrique dans une réaction chimique susceptible de l'éliminer à l'état de composé insoluble.

a) **Elimination par la chaleur.** — Lorsqu'il s'agit de solutions simples de sucre et d'acide cyanhydrique dans l'eau pure, la cha-

(1) Cette coloration bleue résulte de l'action de l'oxydure de cuivre en excès sur l'acide cyanhydrique, au contact de l'air. On peut facilement s'en rendre compte de la façon suivante :

De l'oxyde de cuivre est mis en suspension dans un mélange à volumes égaux de liqueur sodique (liq. B de Bertrand) et d'eau distillée et on ajoute graduellement une solution aqueuse d'acide cyanhydrique jusqu'à dissolution totale de l'oxydure ; la liqueur limpide est alors incolore. Si dans cette dernière on ajoute de nouveau de l'oxydure de cuivre de telle sorte qu'une partie de celui-ci reste indissoute et si on agite, on voit graduellement la liqueur redevenir bleue.

leur est un procédé parfait d'élimination. Ainsi, on a préparé deux échantillons du mélange suivant :

Solution de glucose à 1 gr., 0164 pour 100 cm ³	5 cm ³
Soit 0 gr., 0508 glucose.)	
Solution d'acide cyanhydrique à 1 gr., 22 pour 100 cm ³	2 —
Eau distillée	13 —

Sur l'un des échantillons, on a pratiqué immédiatement le dosage du sucre réducteur par la méthode de Bertrand : on a utilisé 5 cm³,9 de solution titrée de permanganate de potassium (1 cm³=0,01001 Cu), ce qui correspond à 0 gr.,02992 de glucose, au lieu de 0.0508. L'autre échantillon a été évaporé à sec au bain-marie bouillant ; le résidu a été repris par 20 cm³ d'eau et cette solution a été titrée comme la précédente ; on a employé 9 cm³ 7 de solution de permanganate, ce qui correspond à 0 gr.,0510 de glucose, une quantité aussi voisine que possible de celle introduite dans la liqueur dosée.

Si on opère sur des mélanges complexes, par exemple sur les liqueurs d'hydrolyse d'un glucoside par l'émulsine, il est indispensable, pour obtenir un dosage précis, d'observer certaines précautions (1) ; c'est ce que démontrent les essais décrits ci-dessous :

On a d'abord préparé le mélange fermentaire suivant :

Amygdaline cristallisée (avec 3 H ² O).....	3 gr.
Eau distillée	Q. S. pour.... 200 cm ³
Emulsine des amandes	0 gr., 6
Toluène	1 cm ³
(Soit 1 gr., 50 d'amygdaline cristallisée pour 100 cm ³ .)	

qui a été abandonné pendant 5 jours à la température du laboratoire, en agitant fréquemment.

α. 20 cm³ du mélange fermentaire ont alors été additionnés, pour défécation, de 1 cm³ d'extrait de Saturne, puis de 2 cm³ de solution saturée de sulfate de sodium et complétés avec de l'eau distillée, à 30 cm³. La liqueur ainsi obtenue après filtration représentait sensiblement, pour 100 cm³, 1 gr. d'amygdaline cris-

(1) Nous ne pouvons nous étendre ici sur les techniques à employer pour stabiliser la solution fermentaire au moment précis visé par le dosage. Contentons-nous d'indiquer qu'on pourra, par exemple, la porter rapidement à une température supérieure à celle de la destruction du ferment, avant de la soumettre à l'évaporation.

tallisée, susceptible de fournir, par hydrolyse fermentaire complète, 0 gr.,700 de glucose. Les dosages de ce dernier dans cette liqueur déféquée nous ont donné, pour 100 cm³ :

Par la méthode de Bertrand	0 gr. 5791
Par la méthode volumétrique.....	{ 1 ^{er} essai. 0 gr., 699
(Décoloration de la liqueur de Violette).....	{ 2 ^e essai. 0 gr., 694
(Soit, sensiblement, le chiffre théorique.)	

β. 10 cm³ du mélange fermentaire ont été évaporés à siccité au bain-marie bouillant pour chasser l'acide cyanhydrique ; le résidu a été repris par 10 cm³ d'eau distillée ; on a ajouté 0 cm³ 5 d'extrait de Saturne, 1 cm³ de solution saturée de sulfate de sodium et complété à 15 cm³ avec de l'eau distillée, de telle sorte que nous aboutissions à une dilution égale à celle de l'expérience précédente. Or, le dosage par la méthode de Bertrand nous a donné un chiffre de 0 gr.,4032 de glucose pour 100 cm³, c'est-à-dire un chiffre très inférieur à celui (0,5791) de l'essai précédent et encore plus éloigné de la valeur théorique (0,700) (1).

γ. Par contre, on retrouve sensiblement la totalité du sucre réducteur, si on opère une évaporation ménagée. Ainsi, 20 cm³ du mélange fermentaire sont évaporés au bain-marie bouillant jusqu'à 10 cm³ environ ; on ajoute à ce liquide 10 cm³ d'eau, 1 cm³ d'extrait de Saturne, 2 cm³ de solution saturée de sulfate de sodium ; on agite bien, on complète avec de l'eau à 30 cm³, on agite soigneusement à nouveau, et on filtre. Le dosage par la méthode de Bertrand accuse alors un chiffre de 0 gr.,690 glucose pour 100 cm³ (théorie : 0,700).

Nous avons vérifié antérieurement, sur des solutions aqueuses contenant des quantités bien déterminées de glucose et d'acide cyanhydrique, qu'il suffit, même en présence d'émulsine, d'une évaporation au bain-marie jusqu'à un demi-volume, pour obtenir l'élimination complète de ce dernier composé. Ainsi, on évapore jusqu'à environ un demi-volume les trois mélanges suivants :

	1	2	3
Solution de glucose à 1 gr., 0164 pour 100 cm ³ ..	15 cm ³	15 cm ³	15 cm ³
Sol. d'ac. cyanhydrique 0 1 gr., 522 p. 100 cm ³ .	0	3 —	3 —
Eau distillée	3 —	0	0
Emulsine des amandes	0	0	0 gr., 05

(1) Une partie de glucose, englobée par l'émulsine coagulée et séchée, ne rentre vraisemblablement plus en solution ; peut-être aussi, une certaine portion disparaît-elle par altération, au contact des produits complexes de la solution, par suite de l'évaporation poussée à siccité.

On ajoute ensuite au mélange 3 : 1 cm³ d'extrait de Saturne, 2 cm³ de solution aqueuse saturée de sulfate de sodium, puis, avec de l'eau distillée, on complète les 3 mélanges à 30 cm³, et on filtre. Le dosage du glucose effectué sur 10 cm³ (= 0,0508 de glucose) de chaque liqueur filtrée, par la méthode de Bertrand, a donné :

1	2	3
0,0510	0,0510	0,0507

b) **Elimination par un courant d'air.** — On peut éliminer l'acide cyanhydrique en faisant passer un courant d'air dans sa solution aqueuse ; mais l'opération est longue ; il est bon néanmoins de mentionner cette technique qui peut trouver son utilité dans certains cas spéciaux.

I. — On fait passer, pendant 5 heures, un courant d'air lent dans la solution suivante :

Solution aqueuse de glucose à 1 gr., 0164 pour 100 cm ³ ..	15 cm ³
Solution d'acide cyanhydrique à 1 gr., 522 p. 100 cm ³ ..	3 —

On a ensuite complété à 30 cm³ avec de l'eau distillée puis titré le glucose, par la méthode de Bertrand, sur 10 cm³ de cette dernière solution. On a trouvé 0 gr.,0510.

II. — Un essai analogue a été fait sur 20 cm³ de la solution fermentaire d'amygdaline à 1 gr. 50 pour 100 cm³, après passage du courant d'air on a amené le volume à 30 cm³ et titré sur 10 cm³. On a trouvé 0 gr.,0690, alors que le dédoublement complet de l'amygdaline cristallisée pure doit en donner théoriquement 0,0700.

c) **Elimination par voie chimique.** — On sait que l'acide cyanhydrique forme avec la plupart des sels de métaux lourds des précipités de cyanures correspondants insolubles ; aussi était-il indiqué de rechercher si la défécation des liqueurs complexes par le procédé courant à l'acétate ou sous-acétate de plomb pourrait éliminer d'une solution l'acide cyanhydrique comme cela se passe pour les polyphénols, les tanins, certaines matières albuminoïdes, etc.

Nous avons préparé deux séries, A et B, représentées chacune par 4 tubes à essai contenant respectivement :

Séries A et B			
Tube 1.....	10 cm ³ eau distillée		
— 2.....	10 cm ³ de solution aqueuse de CNH	à $\frac{0 \text{ gr., } 01523}{100 \text{ cm}^3}$	
— 3.....	10 cm ³ —		$\frac{0 \text{ gr., } 1523}{100 \text{ cm}^3}$
— 4.....	10 cm ³ —		$\frac{1 \text{ gr., } 523}{100 \text{ cm}^3}$

Dans chaque tube de la série A on a ajouté 1 cm³ de solution aqueuse d'acétate de plomb à 10 gr. pour 100 cm³ ; dans chaque tube de la série B on a versé 1 cm³ de sous-acétate de plomb liquide (extrait de Saturne). Les tubes ont été bouchés et abandonnés, pendant 24 heures, à la température du laboratoire. Les tubes de chacune des deux séries prise en particulier présentaient un trouble très léger de même ordre de grandeur dans les quatre tubes ; ce trouble était plus apparent dans la série contenant du sous-acétate de plomb que dans celle contenant de l'acétate neutre. Mais il apparaissait bien ainsi que les troubles observés étaient dus surtout à l'action de l'acide carbonique en dissolution dans l'eau sur les sels plombiques, et qu'ils ne devaient pas être rapportés à la formation de cyanure de plomb insoluble, qu'on n'observe pas, au moins aux concentrations indiquées.

Nous avons vérifié, d'autre part, que si l'on défèque par le sous-acétate de plomb soit des solutions d'amygdaline hydrolysée par l'émulsine, soit des solutions de glucose additionnées d'acide cyanhydrique, on retrouve l'acide cyanhydrique dans les solutions filtrées après addition du défécant.

Nous avons donc essayé d'éliminer l'acide cyanhydrique en recourant à la formation d'un cyanure pratiquement insoluble dans l'eau et en fait nous avons envisagé le cyanure d'argent.

On a préparé la solution suivante :

Solution de glucose à $\frac{1 \text{ gr., } 0164}{100 \text{ cm}^3}$	25 cm ³
Solution d'acide cyanhydrique à $\frac{1 \text{ gr., } 523}{100 \text{ cm}^3}$	5 —
Eau distillée	Q. S. pour... 50 —

On introduit 30 cm³ de cette solution dans un matras jaugé de 40 cm³ ; on ajoute une solution aqueuse d'azotate d'argent à 5 pour cent, jusqu'à cessation de précipité, on complète avec de l'eau distillée jusqu'à 40 cm³ ; on agite et on filtre ; 20 centimètres cubes du liquide filtré sont introduits dans un matras jaugé de 30 cm³, on ajoute 0 cm³ 5 de solution aqueuse de chlorure de potassium à 10 pour 100 pour précipiter l'azotate d'argent en excès (1), on complète à 30 cm³ avec de l'eau distillée et on filtre.

La dernière liqueur obtenue, qui représente très sensiblement le liquide primitif dilué au demi, a été titrée par la méthode de BERTRAND sur une prise d'essai de 20 cm³. On a trouvé 0 gr., 0510 glucose, soit 0 gr., 510 pour 100 cm³ de liquide primitif (théorie : 0,5082).

Comme on le voit, le procédé conduit à des résultats satisfaisants, mais il nécessite des dilutions et des filtrations répétées qui peuvent être des causes d'erreurs; aussi avons-nous cherché à le simplifier en ajoutant à la liqueur primitive successivement de la solution d'azotate d'argent en léger excès, puis de la solution de chlorure de potassium pour éliminer cet excès, amenant la liqueur au volume voulu et terminant par une seule filtration ; on procédait, en somme, comme cela se pratique fréquemment dans les défécations par les sels de plomb, dans lesquels l'excès de plomb est éliminé, avant toute filtration, par addition de sulfate de sodium.

15 cm³ de la solution cyanhydrique de glucose à 1 gr., 0164 pour un matras jaugé de 30 cm³ ; on a ajouté la solution de nitrate d'argent, agité, puis versé de la solution de chlorure de potassium, complété à 30 cm³, agité à nouveau et filtré. Sur 20 cm³ de la liqueur obtenue, on a titré le glucose par la méthode de BERTRAND ; on a vu alors qu'il apparaissait, au cours du dosage, un peu de cyanure cuivreux et le résultat final obtenu (0 gr., 453 de glucose pour 100 cm³ ; théorie : 0 gr., 5082) a été entaché d'erreur par défaut. Ce résultat semble bien montrer que l'élimination de l'acide cyanhydrique a été incomplète.

(1) Il est tout à fait indispensable d'éliminer cet excès d'azotate d'argent, car, au cours du dosage consécutif du sucre, une partie de ce dernier réduirait le sel argentique à l'état d'argent et le dosage serait ainsi complètement faussé par défaut.

A ce sujet d'ailleurs, nous avons fait quelques essais, qui corroborent bien cette opinion :

Une solution d'acide cyanhydrique ou de cyanure alcalin est additionnée d'azotate d'argent en excès ; le mélange trouble est alors divisé en deux portions : a) L'une de celle-ci est filtrée ; la liqueur filtrée est additionnée de solution de chlorure de potassium pour précipiter l'argent en excès ; on filtre à nouveau et la recherche de l'acide cyanhydrique, par la réaction du bleu de Prusse, dans le dernier liquide obtenu, conduit à un résultat négatif ; b) l'autre portion, trouble, est additionnée, sans filtration préalable, de solution de chlorure de potassium ; après agitation et filtration, on obtient, cette fois, un liquide fournissant un abondant précipité de bleu de Prusse.

Comme on le voit, il est donc nécessaire de précipiter successivement d'abord l'acide cyanhydrique par l'azotate d'argent, puis, après séparation du cyanure d'argent, l'excès d'argent par le chlorure de potassium.

Nous pensions qu'une telle façon d'opérer nous donnerait toute satisfaction dans le dosage du sucre provenant du dédoublement fermentaire de l'amygdaline en solution aqueuse, sous l'influence de l'émulsine. Mais cet espoir n'a pas été réalisé.

En effet, nous avons opéré, par exemple, sur la solution suivante :

Amygdaline cristallisée	1 gr.
Emulsine.	0 gr., 20
Eau distillée Q. S. pour....	100 cm ³
Toluène	1 —

laissée quelques jours à la température de 33° (1). On a procédé exactement suivant la technique indiquée p. 43 : addition d'azotate d'argent en excès, filtration, addition de chlorure de potassium, filtration ; obtention finale d'une liqueur limpide correspondant à un demi-volume de la liqueur primitive. Le titrage de cette dernière liqueur par la méthode de BERTRAND nous donnait 0 gr.,678 de glucose pour 100 cm³ de liqueur primitive (= 1 gr. amygdaline cristallisée ; théorie : 0,700). D'autre part, cette liqueur fournissait un abondant précipité de bleu de Prusse, dans les conditions ordinaires de la recherche de l'acide cyanhydrique.

(1) Dans ces conditions le dédoublement du glucoside est complet.

Dans le but de découvrir le ou les facteurs d'erreur dont l'action aboutissait ainsi à une élimination incomplète de l'acide cyanhydrique, nous avons institué une série d'essais portant sur les composés du mélange fermentaire pris soit isolément, soit associés diversement.

Les composés envisagés étaient en solution aqueuse. Les diverses solutions, déféquées comme il vient d'être indiqué, ont fourni les résultats suivants, au point de vue de la recherche de l'acide cyanhydrique non éventuellement éliminé :

Solutions	Résultat de la recherche de l'acide cyanhydrique
1 Acide cyanhydrique	0
2 Glucose + CNH	0
3 Emulsine + CNH.	0
4 Benzaldéhyde + CHN.	défécation effectuée immédiatement.. défécation effectuée après 24 heures. 0 +
5 Benzaldéhyde + CNH + H. .	défécation effectuée immédiatement.. défécation effectuée après 24 heures. 0 +
6 Benzaldéhyde + CNH + HO'. .	défécation effectuée immédiatement.. défécation effectuée après 24 heures. + +
7 Benzaldéhyde + CNH + émulsine	+
8 Amygdaline + émulsine (1)	+

Comme on le voit nettement d'après les essais qui précèdent, l'acide cyanhydrique ne persiste après défécation que dans les mélanges contenant de la benzaldéhyde, soit que ce mélange présente une réaction alcaline, soit qu'il contienne de l'émulsine, soit encore qu'il soit neutre, mais que la défécation, faite après 24 heures, laisse suffisamment longtemps en contact l'acide cyanhydrique et la benzaldéhyde, toutes conditions qui aboutissent en somme à la formation du nitrile phényloxyacétique ; si le contact entre la benzaldéhyde et l'acide cyanhydrique a été réalisé en milieu acide (mélange 5), la défécation élimine totalement l'acide cyanhydrique.

A.-J. ULTÉE (2) a montré que, d'une façon générale, l'acide cyanhydrique se combine avec les aldéhydes ou les cétones pour

1) Le mélange 5 était acidulé légèrement par de l'acide sulfurique; le mélange 6 était alcalinisé par de la lessive de soude et, avant de procéder aux défécations, on l'acidulait légèrement par de l'acide sulfurique.

(2) A. J. ULTÉE. — Contribution à la connaissance des cyanhydrines; *Rec. Trav. chim. des Pays-Bas*, XXVIII, 1-10, 1909.

donner des oxynitriles, — qui ne précipitent pas par le nitrate d'argent, — la réaction aboutissant à un état d'équilibre déterminé par la teneur respective des composés dans le mélange. Cette réaction de condensation se poursuit lentement à la température ordinaire ; elle est considérablement accélérée par la présence de substances de caractère alcalin et l'oxynitrile formé reste stable après acidulation des liqueurs.

P.-H. WIRTH (1) a précisément étudié expérimentalement l'équilibre acide cyanhydrique-benzaldéhyde en solution aqueuse, et il a effectivement démontré que la rapidité suivant laquelle se réalise cet équilibre est considérablement augmentée par la présence d'ions OH' tandis qu'elle est ralentie énormément par les ions H'.

Ces faits nous expliquent comment une portion de l'acide cyanhydrique (liqueur 6, p. 44, par exemple) peut être soustraite à l'action précipitante du nitrate d'argent, cet acide se combinant partiellement en milieu alcalin avec les aldéhydes ou les cétones pour donner un oxynitrile. L'acide cyanhydrique de ce dernier pourra, par contre, intervenir à nouveau au cours d'un dosage de sucre pratiqué d'après la méthode de BERTRAND ou au cours de la recherche par le procédé classique du bleu de Prusse.

A la vérité, dans le cas de l'émulsine (solution 7 et 8, p. 44), nous n'opérons pas en présence d'un alcali, mais ROSENTHALER (2) a montré que l'émulsine posséderait la propriété de déterminer la formation d'un oxynitrile et contiendrait ainsi un ferment qu'il a appelé oxynitrilase.

D'après E. NORDEFELDT (3), d'ailleurs, le rôle de l'émulsine serait dû uniquement à une variation de pH du mélange ; cet auteur a démontré, en effet, que la rapidité de la synthèse est la même, que celle-ci soit provoquée par une quantité déterminée d'émulsine ou par toute autre substance analogue amenant finalement le mélange au même pH.

(1) P. H. WIRTH. — Untersuchungen über Blausäure-Benzaldehydlösungen in Verbindung mit Kirschchlorbeerwasser; *Arch. der Pharm.*, CCXLIX, 382-400, 1911.

(2) L. ROSENTHALER. — Durch Enzyme bewirkte asymmetrische Synthesen; *Biochem. Ztschr.*, XIV, 233-253, 1908.

(3) E. NORDEFELDT. — Die Bedeutung der Acidität für die Oxynitrilsynthese und die Nichtexistenz des Rosenthalerschen syn-Emulsins; *Biochem. Ztschr.*, CXVIII, 15-33, 1921.

Si nous considérons la réaction d'équilibre



on voit que l'élimination, par précipitation, de l'acide cyanhydrique libre, doit déterminer, par retour à l'équilibre, la décomposition de l'oxynitrile en benzaldéhyde et acide cyanhydrique ; la réaction marchera de droite à gauche (←) jusqu'à ce que tout l'oxynitrile soit décomposé ; si nous opérons en milieu alcalin, la réaction se fera très rapidement et sera complète en quelques secondes ; en milieu acide, elle se poursuivra avec une lenteur extrême ne devenant sensible qu'après un très long temps et étant, de ce fait, inutilisable pour le but pratique que nous poursuivons.

En fait, si, opérant sur des solutions semblables à celles examinées précédemment (p. 44) dans lesquelles la défécation s'était montré insuffisante, nous répétons cette fois la même défécation en ayant soin d'alcaliniser préalablement les solutions avec un peu d'ammoniaque (11 gouttes pour 30 cm³), nous constatons alors une élimination à peu près totale de l'acide cyanhydrique (1).

Cette technique nous a permis de doser exactement par la méthode de Bertrand, le glucose contenu dans des solutions renfermant originellement de l'acide cyanhydrique, ainsi que le sucre contenu dans les liqueurs fermentaires d'hydrolyse d'amygda-line par l'émulsine.

Mais, en réalité, lorsqu'on ajoute de l'azotate d'argent à une solution alcaline, il se produit immédiatement un précipité d'oxyde d'argent, OAg² ; il est donc logique d'admettre que c'est avec cet oxyde d'argent que l'acide cyanhydrique formé par décomposition de l'oxynitrile va réagir pour donner du cyanure d'argent. S'il en est bien ainsi, on pouvait penser qu'il suffirait d'ajouter aux liqueurs cyanhydriques de l'oxyde d'argent pour éliminer complètement l'acide cyanhydrique, cet oxyde favorisant d'ailleurs, par sa réaction légèrement alcaline, la décomposition de l'oxynitrile.

(1) La suite des opérations d'une telle défécation est donc la suivante : alcalinisation de la solution par NH₃, addition d'azotate d'argent, acidification par l'acide sulfurique, filtration, addition au liquide filtré du chlorure de potassium pour enlever l'excès d'argent, filtration finale.

Cette technique, — n'introduisant dans les mélanges qu'un corps insoluble, OAg^2 , dont la réaction avec l'acide cyanhydrique fournit également un composé insoluble, $CNAg$, — aurait eu l'avantage de ne pas déterminer de variations sensibles du volume des liqueurs essayées et d'éviter les calculs et les erreurs que provoquent les dilutions nécessaires dans les autres méthodes.

Effectivement, nous avons pu contrôler que l'oxyde d'argent ajouté à une solution aqueuse d'acide cyanhydrique permet, après agitation et contact d'une quinzaine de minutes, d'éliminer totalement ce dernier composé. On obtient le même résultat satisfaisant en opérant sur une liqueur fermentaire d'hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine.

La technique apparaissait alors très simple : il devait suffire d'ajouter à la liqueur à essayer de l'oxyde d'argent sec, finement pulvérisé, de laisser en contact pendant 15 minutes, en agitant de temps en temps, et de filtrer. On rechercherait sur une petite partie du mélange filtré l'acide cyanhydrique, par la réaction du bleu de Prusse ou par l'azotate d'argent après acidulation ; dans le cas où cette recherche donnerait un résultat positif, ce qui indiquerait que l'oxyde d'argent a été employé en quantité insuffisante, il suffirait d'ajouter au mélange non filtré une nouvelle quantité de cet oxyde.

L'oxyde d'argent en excès et le cyanure d'argent pourront être facilement récupérés et transformés à nouveau en oxyde d'argent ; cette technique d'élimination de l'acide cyanhydrique par l'oxyde d'argent devait être considérée comme un procédé peu coûteux et facilement abordable.

En fait, voici un exemple d'application de ce mode d'élimination de l'acide cyanhydrique par l'oxyde d'argent tel que nous venons de l'envisager ;

On a préparé le mélange suivant :

Glucose d	0 gr., 700
Acide cyanhydrique	0 gr., 0528
Aldéhyde benzoïque	IV gouttes
Eau distillée, Q .S. pour	100 cm^3

Après 4 heures de contact, on a fait sur ce mélange deux dosages de glucose par la méthode de Bertrand, le premier sur une partie du liquide non déféqué, le second sur l'autre portion du

mélange préalablement traité par l'oxyde d'argent. On a opéré chaque dosage sur des prises d'essai de 10 cm³.

Voici les résultats obtenus :

	Volume de solution M _n O ⁴ K utilisée (1 cm ³ = 0 gr., 0 100 G _n)	Glucose trouvé pour 100 cm ³ de liqueur primitive
Liqueur non traitée par l'oxyde d'argent..	11 cm ³ 9	0 gr., 6265
Liqueur traitée par l'oxyde d'argent....	12 cm ³ 9	0 gr., 6955

Si l'on s'en tenait à une telle expérience, on pourrait penser que le procédé de défécation par l'oxyde d'argent est la méthode de choix à laquelle on doit s'arrêter.

Malheureusement, au cours d'essais répétés nous avons constaté que, même à froid, le glucose est oxydé par l'oxyde d'argent en présence, et qu'au bout d'un certain temps on observe, dans le mélange en réaction non filtré, la production d'un miroir d'argent ; corrélativement, le dosage consécutif du glucose dans la liqueur filtrée conduit à un résultat entaché d'erreur par défaut.

Lorsque l'élimination de l'acide cyanhydrique peut se faire rapidement (1) et que, de ce fait, le contact à la température du laboratoire de l'oxyde d'argent avec le glucose n'a pas excédé quelques minutes, il pourra arriver, comme on l'a vu dans l'essai exposé ci-dessus que les résultats du dosage seront satisfaisants.

Mais, comme il est impossible de réaliser des conditions étroites (température, concentration de liqueur en acide cyanhydrique et glucose, durée de défécation, etc.), pouvant permettre d'aboutir à coup sûr à un dosage précis, nous pensons que cette méthode d'élimination de l'acide cyanhydrique par l'oxyde d'argent ne peut constituer la base d'une technique sûre du dosage des sucres réducteurs en présence d'acide cyanhydrique.

Il faudra donc nous en tenir aux méthodes d'élimination précédemment envisagées, soit par action de la chaleur, soit par voie chimique en utilisant successivement, dans les conditions précisées antérieurement, l'azotate d'argent et le chlorure de potassium.

(1) C'est le cas pour l'acide cyanhydrique libre ou pour les mélanges d'acide cyanhydrique et d'aldéhyde benzoïque restés peu longtemps en contact.

CONCLUSIONS

1° La présence d'acide cyanhydrique détermine une erreur par défaut au cours du dosage des sucres réducteurs par les liqueurs cupro-alkalines.

2° La grandeur de l'erreur varie suivant les quantités respectives d'acide cyanhydrique et de sucre en présence.

3° L'erreur est variable suivant les méthodes utilisées ; elle acquiert sa plus grande valeur lorsqu'on emploie des méthodes basées sur la détermination finale de l'oxydure de cuivre précipité.

4° Les causes de l'erreur sont complexes. Nous avons mis en relief les trois suivantes : réaction de Kiliani ; production d'un précipité de cyanure cuivreux ; dissolution de l'oxydure de cuivre par l'acide cyanhydrique avec recoloration bleue des liqueurs.

5° On obtient des dosages corrects des sucres réducteurs, par les liqueurs cupro-alkalines, en éliminant préalablement l'acide cyanhydrique, soit par la chaleur, soit par une précipitation chimique convenablement conduite.

Vu. Bon à imprimer :

Le Président de la thèse,

BOUGAULT.

Vu :

Le Doyen de la Faculté,

RADAIS

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BERTRAND (G.). — Le dosage des sucres réducteurs ; *Bull. Soc. chim.*, [3], XXXV, 1285-1299, 1906.
- BOUGAULT (J.). — Action de l'iode sur les alcalis ; emploi du réactif (iode + alcali) en analyse chimique ; *Journ. de Pharm. et Chim.*, [7], XV, 33-45, 1919.
- BOURQUELOT (Em.) et GRIMBERT (L.). — Documents relatifs au dosage des matières sucrées ; *Journ. de Pharm. et Chim.*, [5], XIX, 465-473, 1889.
- CAUSSE (M.-H.). — Sur le dosage du sucre par la liqueur de Fehling ; *Bull. Soc. chim.* [1], L, 625-626, 1888.
- COOPER (E.-A.) et WALKER (H.). — Further observations on the nature of the reducing substance in human blood ; *Biochem. Journ.*, XVI, 455-459, 1922.
- DENIGÈS (G.). — Nouvelle méthode pour le dosage de l'acide cyanhydrique et de l'eau distillée de laurier-cerise ; *Bull. Pharm. Bordeaux* ; XXXIII, 376-382, 1893.
- EYNON (L.) et LANE (J.-H.). — Influence des bases alcalino-terreuses sur la détermination des sucres réducteurs par la liqueur de Fehling ; *Bull. Soc. Chim.*, [4], XXXIV, 1643, 1923.
- FEHLING (H.). — Ueber die quantitative Bestimmung des Zuckers und Starkemehls mittels Kupfervitriol ; *Chemisch-Pharmaceutisches Central-Blatt*, I, 244-246, 1850.
- FLEURY (P.) et TAVERNIER (P.). — Quelques observations sur le pouvoir réducteur du glucose vis-à-vis des sels de cuivre en milieu alcalin (liqueur de Fehling) et en milieu acide (réactif de Barfoed) ; *Bull. Soc. Chim. biol.*, VII, 331-335, 1925.
- GUIGNARD (L.). — Le Haricot à acide cyanhydrique (*Phaseolus lunatus*) *Bull. Soc. pharm.*, XIII, 401-419, 1906.
- HÉRISSEY (H.) et CHALMETA (A.). — Sur le dosage des sucres réducteurs et, en particulier, du glucose, par les liqueurs cupro-alcalines en présence d'acide cyanhydrique ; *Journ. Pharm. et Chim.*, [8], VIII, 393-406, 1928.
- LEVY (M.) et DOISY (E.-A.). — The effect of borate on the oxidation of glucose and other sugars ; *Journ. biol. Chem.*, LXXVII, 733-751, 1928.

- LUPU (E.-R.). — Contribution à l'étude de l'action du glucose sur l'acide cyanhydrique au point de vue chimique et toxicologique ; *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1928.
- NORDEFELDT (E.). — Die Bedeutung der Acidität für die Oxynitrilsynthese und die Nichtexistenz des Rosenthalerschen syn-Emulsins ; *Biochem. Ztschr.*, CXVIII, 15-33, 1921.
- PÉLIGOT (E.). — Rapport fait à la Société d'Encouragement sur le concours relatif à la découverte d'un moyen saccharimétrique propre à faire connaître promptement la quantité de sucre contenue dans la betterave ou dans tout autre produit sucré ; *Journ. Pharm. et Chim.*, [3], VI, 301-304, 1844.
- PÉLIGOT (E.). — Sur quelques propriétés des glucoses ; *C. R. Ac. des Sciences* ; LXXXIX, 918-922, 1879.
- PERRIER (J.). — Contribution à l'étude de la réaction de Kiliani. Action des cyanures alcalins sur les sucres réducteurs ; *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1928.
- RAMMELSBERG (C.). — Ueber die einfachen und doppelten Cyanmetalle ; *Pogg. Ann.*, XLII, 124-131, 1837.
- RAMMELSBERG (C.). — Ueber ein neues Kaliumkupfercyanür ; *Pogg. Ann.*, LXXIII, 117-118, 1848.
- RAMMELSBERG (C.). — Ueber die Form und Zusammensetzung der Doppelcyanüre von Kalium und Kupfer ; *Pogg. Ann.*, CVI, 491-494, 1859.
- ROSENTHALER (L.). — Durch Enzyme bewirkte asymmetrische Synthesen ; *Biochem. Ztschr.*, XIV, 238-253, 1908.
- RUPP (E.). — Ueber titrimetrische Bestimmungen und Trennungen von Cyaniden, Rhodaniden und Chloriden ; *Arch. der Pharm.*, CCXLIII, 458-467, 1905.
- SCHIFF (H.) et BECCHI (E.). — Ueber ammoniakalische Kupfercyanüre ; *Lieb. Ann.*, CXXXVIII, 24-36, 1866.
- TREADWELL (F.-P.) et GIRSEWALD (C. v.). — Ueber die Nichtfällbarkeit des Kupfers durch Schwefelwasserstoff aus cyankaliumhaltiger Lösung ; *Ztschr. f. anorg. Chem.*, XXXVIII, 92-100, 1904.
- TROMMER. — Unterscheidung von Gummi, Dextrin, Traubenzucker und Rohrzucker ; *Pharmaceutisches Central-Blatt*, II, 762-764, 1841.
- ULTÉE (A.-J.). — Contribution à la connaissance des cyanhydrines ; *Rec. Tram. chim. Pays-Bas*, XXVIII, 1-10, 1909.
- WIRTH (P.-H.). — Untersuchungen über Blausäure-Benzaldehydlösungen in Verbindung mit Kirschlorbeerwasser ; *Arch. der Pharm.*, CCXLIX, 382-400, 1911.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	1
PREMIÈRE PARTIE	
LA PRESENCE D'ACIDE CYANHYDRIQUE EST UNE CAUSE D'ERREUR PAR DEFAUT DANS LE DOSAGE DES SUCRES REDUCTEURS PAR LES LIQUEURS CUPRO-ALCALINES ...	7
I. Essais préliminaires avec le glucose d.....	7
II. Influence de quantités variables d'acide cyanhydrique et extension des recherches à d'autres sucres que le glu- cose d	8
DEUXIÈME PARTIE	
OBSERVATIONS SUR LES FACTEURS D'ERREUR QUI PEU- VENT INTERVENIR AU COURS DES ESSAIS PRECEDEM- MENT EXPOSES	17
A. Réaction de Kiliani	17
B. Formation de cyanure cuivreux	19
I. Détermination du cuivre par calcination	22
II. Détermination du cuivre par précipitation.....	23
III. Détermination de l'acide cyanhydrique.....	25
C. Solubilisation de l'oxyde de cuivre par l'acide cyanhy- drique	31
TROISIÈME PARTIE	
COMMENT DOSER CORRECTEMENT LES SUCRES REDUC- TEURS EN PRESENCE D'ACIDE CYANHYDRIQUE ?	33
A. Dosage volumétrique par les liqueurs cupro-alcalines.....	34
B. Elimination de l'acide cyanhydrique	37
a) Elimination par la chaleur	37
b) Elimination par un courant d'air	40
c) Elimination par voie chimique	40
CONCLUSIONS	49
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	50

